

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE

N°

429

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Vladimir de ZERNOFF

Né le 18 mai 1904, à Moscou

L'IMMUNITÉ
CHEZ
LES INSECTES

Président : M. FIESSINGER, Professeur

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUBE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1935

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

THÈSE

N° —

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Vladimir de ZERNOFF

Né le 18 mai 1904, à Moscou

L'IMMUNITÉ
CHEZ
LES INSECTES

Président : M. FIESSINGER, Professeur

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

—
1935

I. — PROFESSEURS

MM.

Anatomie	ROUVIERE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	DESGREZ.
Bactériologie	R. DEBRÉ.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	BAUDOUIN.
Pathologie chirurgicale	CHEVASSU.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	HARVIER.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LAIGNEL-LAVASTINE.
Pathologie expérimentale et comparée	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	Maurice VILLARET.
Clinique médicale	LOEPER.
	CARNOT.
	CLERC.
	Marcel LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBOULLET.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	LEMIERRE.
	CUNÉO.
Clinique chirurgicale	GOSSET.
	GRÉGOIRE.
	LENORMANT.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	MARION.
	BRINDEAU.
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique	PROUST.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la tuberculose	BEZANÇON.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	MATHIEU.
	HOVELACQUE.
	MULON.
Professeurs sans chaire	OLIVIER.
	VERNE.
	MOCQUOT.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

BÉNARD (H.) .. Pathologie médicale.
 BERNARD (E.). Pathologie médicale.
 BOULIN Pathologie médicale.
 BULLIARD Histologie.
 CATHALA Pathologie médicale.
 CHEVALLIER .. Pathologie médicale.
 DOGNON Physique.
 FEY Urologie.
 GALLIARD Parasitologie.
 GASTINEL Bactériologie.
 DE GAUDART D'ALLAINES.. Pathologie
 chirurgicale.
 GAYET Physiologie.
 GIROUD Histologie.
 HAGUENAU ... Pathologie médicale.
 HALPHEN Oto-rhino-laryngologie.
 HAZARD Pharmacologie.
 HUGUENIN Anatomie pathologique.
 JOANNON Hygiène.
 LABBÉ (Henri).. Chimie biologique.
 LACOMME Obstétrique.

MM.

LANTUEJOUL .. Obstétrique.
 LAROCHE (G.).. Pathologie médicale.
 LEMAIRE Pathologie expérimentale.
 LEVEUF Pathologie chirurgicale.
 M^{lle} J. LÉVY ... Pharmacologie.
 LÉVY-VALENSI. Neurologie et Psychiatrie.
 MOREAU Pathologie médicale.
 MOULONGUET.. Pathologie chirurgicale.
 MOUQUIN Pathologie médicale.
 OBERLING Anatomie pathologique.
 PETIT-DUTAILLIS. Pathologie chirurgicale.
 PIÉDELIEVRE .. Médecine légale.
 PORTES Obstétrique.
 RICHET Physiologie.
 SANNIÉ Chimie biologique.
 SÈNEQUE Pathologie chirurgicale.
 TROISIER Pathologie expérimentale.
 TURPIN Pathologie médicale.
 VIGNES Obstétrique.
 WILMOTH Pathologie chirurgicale
 Justin BESANÇON.. Hydrologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM.

ALGLAVE Pathologie chirurgicale.
 BUSQUET Pharmacologie.
 CHAILLEY-BERT. Physiologie.

MM.

LEROUX Anatomie pathologique.
 NEVEU-LEMAIRE. Parasitologie.
 ZIMMERN Physiologie.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

A TITRE PERMANENT

MM.		MM.	
ABRAMI.	Clinique médicale.	BASSET.	Clinique chirurgicale.
ALAJOUANINE.		BROCQ.	
AUBERTIN.		CADENAT.	
BRULÉ.		GATELLIER.	
CHABROL.		HEITZ-BOYER.	
CHIRAY.		MOURE.	
DONZELOT.		QUÉNU.	
DUVOIR.		SCHWARTZ.	
HARVIER.		VELTER.	
LIAN.			
VALLÉRY-RADOT			
(Pasteur).			
SÉZARY.			

MM.	
ÉCALLE	Clinique obstétricale
GUÉNIOT.	
LE LORIER.	
LÉVY-SOLAL.	
METZGER.	

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.	
CHAILLEY-BERT, agrégé ...	Éducation physique.
LEDoux-LEBARD	Radiologie clinique.
WEIL-HALLÉ	Puériculture.
FREY.....	Stomatologie

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PÈRE

A MA MÈRE

A LA MÉMOIRE DU DOCTEUR ÉMILE ROUX

A M. LE DOCTEUR L. MARTIN

Directeur de l'Institut Pasteur
Membre de l'Académie de Médecine

A M. LE PROFESSEUR MESNIL

Membre de l'Institut
Membre de l'Académie de Médecine
Chef de Service à l'Institut Pasteur

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR FIESSINGER

Professeur de Pathologie expérimentale et comparée

En témoignage de profond respect.

A NOTRE MAITRE

M. LE PROFESSEUR METALNIKOV

Chef de Service à l'Institut Pasteur

En témoignage de notre profonde gratitude. Pendant les huit ans au cours desquels nous avons eu l'honneur d'être son assistant à l'Institut Pasteur, il nous a guidé dans nos recherches scientifiques.

Nous lui devons l'inspiration de ce travail, dont il nous a facilité la réalisation par ses précieux conseils.

L'IMMUNITÉ CHEZ LES INSECTES

I

INTRODUCTION

Tout organisme vivant est admirablement bien protégé contre les microbes dont il est entouré et avec lesquels il entre constamment en contact intime.

Chez l'homme, aussi bien que chez les animaux ou chez les insectes, il existe toute une série de différents systèmes, qui accomplissent tous des fonctions de la défense et de la protection de l'organisme.

Ainsi, de l'extérieur il est protégé par la peau ; cette protection mécanique est renforcée par la desquamation et la régénération de l'épithélium. Le rôle des muqueuses est augmenté par leurs sécrétions. Les sucs de différentes glandes, comme par exemple le suc gastrique, la bile, etc. ont une action désinfectante chimique et en même temps mécanique.

Mais, à part tous ces nombreux facteurs mécaniques et chimiques qui protègent l'organisme de l'extérieur, il existe des facteurs biologiques beaucoup plus complexes qui protègent l'organisme à l'intérieur aussi bien que de l'extérieur et qui forment un état particulier de résistance de l'organisme contre les microbes et leurs produits qu'on appelle l'immunité.

Depuis l'œuvre de Pasteur, nos connaissances sur l'immunité, ses causes et son mécanisme ont pris une importance considérable. On sait que tout être vivant, depuis l'homme et les animaux supérieurs jusqu'aux invertébrés et aux plantes, peut être immunisé. L'immunité chez tous les organismes vivants a certains caractères communs, d'autres sont particuliers à chaque espèce.

D'habitude on distingue l'immunité naturelle et l'immunité acquise.

L'immunité naturelle est l'état réfractaire d'un organisme à certains microbes et à leurs poisons.

Ainsi on connaît que l'homme n'est pas sensible à nombre d'infections animales (peste bovine, piroplasmoses, etc.); les bovidés résistent à la morve, les poules au charbon, les grenouilles au tétanos. Cette immunité naturelle peut être absolue ou bien relative. L'exemple le plus démonstratif d'*immunité naturelle absolue* nous est donné par les chenilles de la mite d'abeilles, lesquelles résistent très bien à la tuberculose (Métalnikov).

L'immunité d'un animal est *relative* lorsque, sous l'influence de certaines conditions, il devient susceptible à la maladie. Froid, chaleur, surmenage font varier notablement le degré de l'immunité. De même, la quantité et la virulence d'un microbe jouent un rôle important dans la résistance de l'organisme.

Ainsi on sait qu'une grenouille infectée de bac. tétanique ou de *Trypanosoma inopinatum* résiste à 0°, mais succombe à 20°-23°. Le cobaye est réfractaire au streptocoque, mais un streptocoque virulent injecté en grande quantité provoque une infection mortelle chez cet animal.

L'immunité acquise apparaît après certaines infections. On connaît depuis longtemps plusieurs maladies, comme par exemple : la variole, la scarlatine, la fièvre jaune qui ne récidivent presque jamais. De même, l'immunité acquise peut être réalisée artificiellement par l'immunisation, qui à son tour peut être active ou bien passive.

En général, *l'immunisation active* se fait à l'aide de vaccins ou des virus atténués. Le mode de vaccination est souvent très différent. On connaît bien la vaccination antivariolique, antirabique, antidiphthérique, etc. L'immunité active peut durer plusieurs années ; d'autre part, il faut un certain temps pour qu'elle se produise.

L'immunité passive peut être conférée à un sujet neuf, par l'injection d'un sérum ou du sang d'un animal immunisé. L'exemple est l'injection du sérum antidiphthérique dans le traitement de la diphthérie.

Cette immunité s'établit presque instantanément, mais elle est d'une beaucoup plus courte durée que l'immunité active.

On considère que l'immunité en général est *spécifique*; ainsi la vaccination antivariolique ne confère aucunement l'immu-

nité envers la diphtérie et à son tour la vaccination antidiphtérique est efficace pour prévenir la diphtérie, mais pas les autres infections.

D'autre part, on a observé que la stimulation des fonctions de défense peut provoquer un certain *état d'immunité non spécifique*. Dans la médecine pratique, on applique largement l'immunothérapie non spécifique. Ainsi on emploie les médications leucocytaires qui stimulent la phagocytose, les médications de choc, provoquant probablement la réaction colloïdale de défense. Enfin, en immunisant les animaux, on emploie les stimulants non spécifiques de l'immunité spécifique. Ainsi Ramon a pu constater au cours de l'immunisation des chevaux contre la diphtérie qu'en ajoutant à la toxine diphtérique de la poudre de tapioca on obtient le titre du sérum antitoxique deux fois plus élevé qu'après les injections de la toxine pure.

Toutes ces réactions de l'immunité sont très semblables chez tous les vertébrés.

L'étude de ces réactions a permis de créer plusieurs théories pour expliquer toutes les manifestations de l'immunité.

« Pour expliquer l'immunité, facteur biologique général », dit S. Métalnikov, « il faut construire une théorie pouvant expliquer non seulement l'immunité d'un ou deux groupes animaux, mais aussi l'immunité caractère commun à tous les organismes vivants ».

Métalnikov considère l'immunité en tant que réaction de défense de l'organisme.

« Les réactions de défense ne sont au fond que le résultat d'une propriété commune à tous les êtres vivants qu'on appelle l'instinct de conservation.

« On ne peut pas s'imaginer la vie sans cet instinct et sans les réactions de défense. C'est le caractère essentiel et principal des organismes vivants. On le constate non seulement chez tous les animaux pluricellulaires supérieurs et inférieurs, mais également chez tous les organismes unicellulaires les plus simples et jusqu'aux microbes les plus petits. »

Ainsi, pour comprendre l'immunité, il faut la connaître dans son ensemble. Nos connaissances de l'immunité en général auraient été incomplètes sans l'étude de l'immunité chez les insectes.

Metchnikoff, en étudiant l'immunité chez les invertébrés, a observé pour la première fois la phagocytose sur les Daphnies. D'autres réactions importantes de l'immunité ont été mises en évidence sur les insectes.

De plus, ils fournissent un excellent matériel de laboratoire. Sans aucun effort, on peut facilement y avoir un nombre presque illimité d'insectes. Ce matériel est très commode pour les expériences. Certains insectes peuvent donner plusieurs générations par an, ce qui facilite l'étude de l'immunité héréditaire.

On sait qu'un grand nombre d'insectes transmet les maladies infectieuses. Tels sont : les moustiques *Anophèles* pour le paludisme, *Stegomyia fasciata* pour la fièvre jaune, les poux pour la fièvre exanthématique, la mouche glossina pour la maladie du sommeil, etc., etc. La connaissance de l'infection et de l'immunité chez ces insectes peut avoir une importance considérable dans la prophylaxie et même dans la thérapie de plusieurs maladies. Ainsi, le vaccin contre la fièvre exanthématique est préparé avec des poux infectés.

De même, les recherches de Métalnikov sur l'immunité anti-tuberculeuse chez les chenilles de *Galleria mellonella* ont prouvé que le sang de ces chenilles peut avoir certaines propriétés curatives dans le traitement de la tuberculose.

Enfin, l'étude de l'immunité et de l'infection chez les insectes est d'une importance hygiénique et économique dans la destruction des insectes des habitations et des insectes nuisibles dans l'agriculture.

Nous devons mentionner aussi que l'étude de l'immunité chez les insectes utiles (abeilles, vers à soie, etc.) présente un intérêt du point de vue de la prophylaxie et de la défense de ces insectes contre les maladies infectieuses.

Les premières recherches bactériologiques sur l'infection chez les insectes ont été publiées, en 1870, par Pasteur. Dans son travail sur les maladies des vers à soie, il étudia les flacheries et la pébrine, l'agent microbien, l'épidémiologie et la pathologie de ces maladies.

Puis Balbiani, en 1886, étudia chez les Arthropodes l'immunité naturelle envers des bacilles appartenant au groupe du *Bac. subtilis*. Il constata que les Orthoptères, surtout les Gryllides, sont plus réfractaires à l'infection que les Lépidoptères, Diptères

et Hyménoptères. Il explique l'immunité chez les Gryllides par l'activité phagocytaire des leucocytes et des éléments du tissu péricardial chez ces insectes.

Ensuite, Metchnikoff a fait des expériences sur des larves d'*Oryctes nasicornis* en leur injectant les Bacilles charbonneux, les Bacilles diphtériques et les Vibrions cholériques. Ces insectes se sont montrés réfractaires envers le charbon et la diphtérie, par contre l'injection d'une petite quantité de vibrions cholériques provoquait chez eux une infection mortelle.

D'autre part, Metchnikoff a pu constater l'immunité absolue de ces larves envers la toxine tétanique, mais la toxine reste dans leur sang non neutralisée pendant plusieurs semaines et il n'a pas pu observer la production d'antitoxine.

De même, Kovalevsky a étudié l'immunité et la phagocytose chez le Grillon et il a pu constater que cet insecte est réfractaire à la tuberculose aviaire et très sensible au charbon.

Depuis 1906, Métalnikov étudie l'immunité naturelle chez les chenilles de *Galleria mellonella*. Dans une série de travaux, il a pu démontrer que ces insectes possèdent une immunité remarquable vis-à-vis des microbes les plus pathogènes pour les animaux et envers les différentes toxines. De même Métalnikov fit une étude approfondie de l'immunité antituberculeuse chez ces chenilles, il a pu prouver la destruction des bacilles tuberculeux dans leur sang, le rôle de la phagocytose et des ferments lipolytiques dans ce phénomène.

Cette question a été reprise par N. Fiessinger, A. Ch. Hollande et autres.

En 1920, Métalnikov publia ses premières expériences sur l'immunité acquise chez la chenille de *Galleria Mellonella*.

En même temps, A. Paillot publia ses expériences sur l'immunisation de la chenille d'*Agrotis segetum*.

Ces auteurs ont établi la possibilité d'immuniser les insectes contre les doses mortelles de différents microbes. Cette immunisation peut être faite au moyen des injections d'une culture chauffée, ou bien d'une culture âgée et affaiblie, ou bien d'une dose du microbe très inférieure à la dose minima mortelle.

Depuis ces publications, on a beaucoup étudié l'immunité acquise chez les insectes. Des recherches des plus intéressantes ont été faites sur ce problème.

Suivant ces travaux, les insectes s'immunisent avec une très grande rapidité. D'après Métalnikov et Gaschen, les chenilles de *Galleria mellonella* sont déjà immunisées 3-4 heures après l'injection du vaccin. D'autre part, cette immunité dure pendant toute la vie de la chenille et elle est transmise à la chrysalide et au papillon.

L'immunité acquise chez les insectes est spécifique ; de même, il existe l'immunité non spécifique qui est moins durable, mais, pendant les premiers jours après la vaccination, elle est aussi forte que l'immunité spécifique.

Nous avons pu démontrer la possibilité d'immunisation passive des insectes au moyen d'injection du sang des chenilles vaccinées aux chenilles neuves. De même que nous avons observé l'immunité passive antimicrobienne, Chorine a pu prouver l'existence de l'immunité passive antitoxique.

La possibilité d'immunisation active et passive des insectes prouve indirectement l'existence des anticorps dans le sang des insectes immunisés.

D'autre part, les recherches de Paillot et de Métalnikov, ont mis en évidence la bactériolysine dans le sang des insectes. De même, Glaser a pu observer l'apparition des agglutinines dans le sang des sauterelles vaccinées. Il paraît d'ailleurs que les bactériolysines sont les anticorps les mieux étudiés chez les insectes. D'après nos recherches, ils sont très différents des anticorps des animaux à sang chaud.

On sait que, dans le sérum des vertébrés, on trouve après l'immunisation plusieurs anticorps. Tous ces anticorps peuvent être considérés comme composés de deux substances. La première, l'alexine, qui existe aussi dans le sang de l'animal normal, est détruite par chauffage d'une demi-heure à 56°. L'autre, substance sensibilisatrice qui provient de l'immunisation est plus thermostable et n'est détruite qu'à la température de 60° environ.

Le sérum chauffé au-dessus de 60° devient donc inactif. Dans le sang des insectes, on n'a pas pu observer de substances analogues. Son chauffage à 60° ne change aucunement ses propriétés. Jusqu'à présent on n'a pas pu observer la présence de l'alexine ou d'une substance analogue dans le sang des insectes. De même, les anticorps qui se produisent dans le sérum des insectes immunisés sont très différents de ceux qui se forment dans le

sérum des vertébrés. Ainsi les bactériolysines chez les insectes ne sont pas spécifiques. Elles apparaissent très vite après l'immunisation et disparaissent au bout de 3 jours. Elles ne sont pas détruites même après le chauffage à 100°. Ces quatre caractères : l'absence d'alexine et de substance sensibilisatrice, la non-spécificité, la thermostabilité et la surprenante rapidité de leur apparition les différencient essentiellement des anticorps chez les vertébrés.

Par contre, les réactions cellulaires chez les insectes sont tout à fait semblables aux mêmes réactions chez les mammifères. Métalnikov, qui a beaucoup étudié cette question, a démontré qu'elles peuvent être réduites à quatre réactions principales :

- 1° *Digestion intracellulaire ou phagocytose* ;
- 2° *Formation de cellules géantes*, sorte de coopération qui renforce le travail des cellules isolées ;
- 3° *Formation de capsules* qui entourent les cellules géantes avec les microbes et les mettent à l'abri des organes et cellules saines ;
- 4° *Élimination des microbes*. Cette élimination se réalise essentiellement par une formation d'abcès.

Métalnikov a fait des recherches sur l'hérédité de l'immunité chez les insectes. Le fait que la mite d'abeille donne plusieurs générations par an a permis à Métalnikov d'étudier l'immunité héréditaire chez quatorze générations de chenilles. Suivant ces expériences, l'immunité acquise est transmise aux générations suivantes à condition que toute une série de générations successives soit immunisée.

D'autre part, S. Métalnikov a étudié le rôle du système nerveux dans l'immunité chez les insectes. Dans une série d'expériences faites avec ses élèves, il a pu démontrer le rôle des ganglions nerveux dans l'immunité chez les chenilles de *Galleria mellonella*. La destruction des ganglions cérébraux et ventraux et des deux premiers ganglions thoraciques n'agit pas sur l'immunité. Quant au troisième ganglion thoracique, sa destruction diminue rapidement l'immunité naturelle et acquise. De même, d'après ses expériences sur l'immunisation des fragments du corps de la chenille séparés par une ligature, Métalnikov prouve que l'immunisation de la partie antérieure du corps suffit pour

transmettre l'immunité à la partie postérieure uniquement par la chaîne nerveuse ventrale.

Nous nous bornerons à indiquer ici, dans les traits les plus généraux, la question de l'immunité chez les insectes, telle qu'elle se présente actuellement. Même en ce court exposé on peut voir que l'étude de l'immunité chez les insectes peut nous servir à élargir nos connaissances de l'immunité en général.

Dans les chapitres qui suivent, nous exposons avec plus de détails les différentes questions de l'immunité chez les insectes, aussi bien que nos propres recherches faites dans ce domaine.

II

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1^o Choix d'insectes :

Comme matériel de nos expériences sur les insectes, nous avons employé un nombre très limité d'espèces.

Il faut noter que chaque espèce d'insecte a ses propriétés particulières et se comporte assez différemment envers les microbes. Ainsi, on peut infecter *per os* les chenilles de *Pyrausta nubilalis* avec plusieurs variétés de microbes. Par contre, tous nos efforts pour infecter les chenilles de *Galleria mellonella* par voie buccale avec des microbes les plus virulents sont restés sans succès. D'autre part, les chenilles de *Galleria mellonella* sont très sensibles envers certains microbes, qui à leur tour peuvent être injectés en doses énormes aux *Carausius morosus* sans provoquer chez eux aucune maladie.

Il est très difficile d'immuniser les insectes contre les microbes trop virulents. Ainsi, nous n'avons pas pu immuniser les chenilles de *Galleria mellonella* contre le bacille rouge de Métalnikov ; de même, l'immunisation contre le *Choléra B.* est très difficile. Par contre, dans nos expériences sur l'immunité chez *Carausius morosus*, nous avons obtenu les meilleurs résultats avec la même souche de *Choléra*.

Ainsi, pour chaque insecte, il faut trouver le mode d'infection, déterminer la virulence du microbe et, enfin, choisir la culture contre laquelle il s'immunise le mieux.

C'est donc pour ces raisons que nous avons choisi un nombre très restreint d'espèces d'insectes. La plupart de nos expériences a été faite sur les chenilles de *Galleria mellonella* et sur les Phas-

mides *Carausius morosus* Br. et Redt. D'autre part, nous avons employé les chenilles de *Pyrausta nubilalis* et *Ephestia* Kühn.

2^e Les chenilles de *Galleria mellonella*.

Elles sont un matériel de choix pour les expériences du laboratoire.

Il est extrêmement simple et facile d'entretenir les élevages de ces insectes en quantité voulue. Ils sont les parasites des ruches et ils supportent très bien toutes les conditions d'élevage. Leur cycle évolutif dure à peu près de 6 à 8 semaines. La durée de la vie d'une chenille est de près de 3 à 4 semaines. A l'état adulte, la chenille est longue de 25 à 30 mm. et pèse de 20 à 30 cgr. Nous avons même pu trouver dans l'élevage du professeur Métalnikov des chenilles plus grandes qui pesaient jusqu'à 40 cgr. Elles ont l'aspect de vers jaune grisâtre avec le tégument assez mou. Arrivée au stade adulte, la chenille commence à faire son cocon et se transforme en chrysalide. Elle reste en cet état de 10 à 20 jours, et puis du cocon sort un papillon grisâtre de 10 à 15 mm. de longueur qui pèse de 5 à 8 cgr. Il vit de 5 à 15 jours. Les femelles sont plus grandes que les mâles. Quatre à 5 jours après l'accouplement, les femelles commencent à pondre, elles collent leurs œufs à divers objets. Ces œufs ont l'aspect de petits grains jaunes et au bout de 8 à 10 jours de très petites chenilles commencent à sortir des œufs. La durée de leur vie et de leur cycle évolutif dépend de la nourriture, de la température ambiante, de l'humidité et d'autres nombreuses conditions. Ici nous donnons les chiffres entre lesquels varie la durée de chaque stade :

Développement des œufs	8-10 jours
— des chenilles	21-30 —
— des chrysalides	10-20 —
— des papillons	5-15 —
Cycle évolutif complet	44-75 —

La courte durée de la vie de la mite d'abeille a ses inconvénients ; elle ne permet pas l'étude de la durée et de la spécificité de l'immunité chez cet insecte. Par contre, elle présente un intérêt, car la mite donne plusieurs générations par an, 6-8, ce qui

rend possible d'aborder le problème de l'existence de l'immunité héréditaire.

La température optima de développement des chenilles est 28°-32°. Lorsqu'il y a un grand nombre de chenilles, la température de l'élevage s'élève et devient plus haute que la température ambiante. D'après Métalnikov et Girard (cité par S. Métalnikov) elle peut être à 39° lorsque la température de l'air est 11° et peut atteindre 40° si la température de l'air est 20°.

Comme nous l'avons déjà mentionné, les chenilles mangent de la cire. S. Métalnikov a noté que, pour le développement normal des chenilles, il est indispensable que la cire ne soit pas pure. Une certaine quantité de l'aliment azoté est nécessaire pour la vie et le développement normal des chenilles. Nourries avec de la cire pure, les chenilles restent beaucoup plus petites que les chenilles normales, n'atteignant que 1/10 du poids normal. Cependant, elles se transforment en chrysalides et en papillons qui sont aussi beaucoup plus petits que les papillons normaux et, comme règle, ne peuvent pas s'accoupler et donner deuxième génération. Tout récemment, Mme Sokolovsky, dans le laboratoire du professeur Métalnikov, a pu obtenir une deuxième génération de ces chenilles. D'autre part, les chenilles nourries avec des sucres purs, ou avec des produits albuminoïdes ne peuvent pas se transformer en chrysalides et donner des papillons. On peut donc affirmer que la nourriture pour les *Galleria mellonella* doit être composée de cire mélangée avec des produits azotés.

La structure des organes chez les chenilles de *Galleria mellonella* est adoptée à son mode de vie. L'intestin de la chenille est en forme de long tube étroit et s'étend de la tête jusqu'à l'extrémité postérieure du corps. Sur toute son étendue, il est soutenu par une série de grandes vésicules trachéennes situées des deux côtés de l'intestin. On compte dix paires de ces vésicules. De chacune des vésicules part une quantité énorme de tubules ramifiées, se rendant dans les parois de l'intestin. Cette structure du système trachéen indique que l'intestin a besoin de beaucoup d'air, probablement pour les processus d'oxydation qui s'y produisent pendant la décomposition de la cire.

Comme chez tous les insectes, on distingue dans l'intestin de *Galleria* trois parties : antérieure, moyenne et terminale. Dans

l'intestin antérieur, les aliments subissent une transformation préalable. Il est caractérisé par une partie spéciale couverte de formations chitineuses dures, en forme de râpes et de petites dents qui servent à broyer les aliments. L'intestin moyen est la partie où se passe la digestion proprement dite et on y trouve plusieurs ferments, notamment ferment protéolytique, amylase, lipase, lactase. L'intestin terminal est destiné à la formation et évacuation des excréments.

Les tubes de Malpighi commencent comme de petits tubes courbés dans les parois de l'intestin terminal, ensuite ils se prolongent par six tubes ayant des parties ascendantes et descendantes et ils se terminent par deux canaux dans la partie initiale de l'intestin terminal. Ils jouent le rôle d'organes excréteurs.

La partie ventrale de la chenille est occupée par le corps adipeux. Le système nerveux, très primitif, est formé par une chaîne nerveuse ventrale avec un nombre de ganglions correspondant au nombre de segments du corps de la chenille.

Le système de circulation est formé par le vaisseau dorsal qui est situé dans la partie dorsale de la chenille.

Le sang des chenilles est un liquide jaune transparent, qui ne coagule pas ; mais si on l'expose à l'air, une membrane noire se forme à sa surface. On trouve dans le sang des chenilles plusieurs types de cellules. Métalnikov distingue chez les chenilles de *Galleria mellonella* :

1° *Lymphocytes*, éléments à gros noyau et mince couche protoplasmique, ressemblant aux lymphocytes du sang de l'homme ;

2° *Proleucocytes*, grands éléments à gros noyau et protoplasma fortement colorable ;

3° *Leucocytes*, grands éléments arrondis à couche protoplasmique, assez épaisse et colorée en bleu pâle, à noyau plus petit que celui des proleucocytes. Souvent, on trouve dans ces éléments des inclusions éosinophiles ;

4° *Enocytes*, grandes cellules à protoplasma homogène ;

5° *Cellules sphéruleuses*, grands éléments remplis de sphérules, colorables en bleu-violet foncé par le panchrome. On trouve souvent des stades intermédiaires entre les cellules sphéruleuses typiques et les cellules qui ont perdu leurs granules. Dans cet état, leur protoplasma a l'aspect vacuolaire.

Les leucocytes jouent le rôle le plus actif dans la phagocytose. Les proleucocytes arrivent à phagocyter plus tardivement.

Les cellules sphéruleuses et les œnocytes ne prennent aucune part à la phagocytose.

On trouve chez la chenille de *Galleria* pour 100 éléments sanguins :

Proleucocytes et lymphocytes	45,4
Leucocytes	50,4
Cellules sphéruleuses	4,2
Les œnocytes sont très rares.	

D'après Chorine, la quantité de cellules varie de 2.700 à 19.000 par millimètre cube.

3° *Carausius morosus*.

D'autre part, nous avons employé *Carausius morosus* dont la durée de vie est beaucoup plus longue, ce qui permet l'étude de la spécificité et de la durée de l'immunité.

Carausius morosus appartient à la famille des phasmides. C'est un insecte en forme de bâtonnet ; à l'état adulte, il a de 8,2 cm.-8,7 cm. de long ; lorsque ses pattes sont en extension sa longueur totale est de 11,7 cm.-12,2 cm. et il pèse de 1 gr. 1-1 gr. 4.

Dans notre élevage, les *Carausius* vivent de 10 à 15 mois. Depuis le 6^e mois, ils commencent à pondre de 1 à 6 œufs en 24 heures. Il faut noter que le *Carausius* est un insecte parthogénétique et d'habitude, dans les élevages, on n'observe que les femelles. Cependant, on a décrit plusieurs cas d'apparition des *Carausius* mâles. Dans notre élevage, que nous avons depuis l'année 1928, nous avons eu 7 cas de *Carausius* mâle ainsi que plusieurs cas de gynandromorphisme.

L'éclosion des œufs commence 3 mois après ; les chiffres moyens de développement des œufs sont de 90 à 120 jours. Ces chiffres sont très variables et dépendent de la température, de l'humidité, de la lumière, etc. Les *Carausius* de notre élevage reçoivent comme nourriture des feuilles de lierre. Ces insectes supportent assez bien les changements de la température. Ils peuvent vivre plusieurs semaines dans l'étuve à 30°. Mis à

l'étuve à 35°, ils succombent en quelques jours et, à la température de 38°, ils ne résistent que 2 ou 3 jours seulement. Mais on peut supposer que ce n'est pas la température qu'ils ne supportent pas, mais la sécheresse de l'air. Par contre, nous avons pu observer que les *Carausius* peuvent vivre à la glacière à + 2° pendant plusieurs jours.

Toutes nos expériences avec *Carausius* ont été faites soit à la température du laboratoire, qui varie de 15° à 25°, soit à la température de l'étuve de 30°. Les expériences avec les *Galleria mellonella* ont été faites également soit à la température du laboratoire, soit à la température de l'étuve de 30°. Mais, puisqu'elles supportent assez bien la chaleur, nous avons pu placer les chenilles dans certaines de nos expériences à une température plus élevée, de 35° et de 38°.

4° Technique de l'injection.

Dans toutes nos expériences, nous avons toujours employé la technique du professeur Métalnikov.

Les injections ont toujours été faites à l'aide des pipettes Pasteur stériles. La partie effilée a toujours été courbée sous l'angle de 90° sur un bec de Bunsen. Puis on prenait soin d'effiler très finement la partie terminale de cette pipette. Ce bout doit être très bien préparé, surtout pour les injections aux *Carausius*, car s'il est trop gros, on déchire la paroi de l'insecte et on provoque une hémorragie. On marque à l'aide d'un crayon les divisions sur la partie courbée de la pipette. Ainsi, en soufflant légèrement dans la pipette, on peut injecter le contenu d'une ou de plusieurs divisions de cette pipette. De cette manière, on peut injecter les quantités voulues du liquide avec une très grande précision.

D'habitude, nous injectons de 1/200 jusqu'à 1/100 de cmc. Mais les chenilles et les *Carausius* peuvent supporter des quantités beaucoup plus grandes.

Les insectes inoculés sont mis dans des bocaux avec du papier et de la nourriture et on les porte à la température voulue : soit à l'étuve, soit qu'on les laisse au laboratoire.

5° Détermination de doses mortelles.

Dans nos expériences avec des microbes, nous employons d'habitude des cultures de 24 heures sur gélose inclinée ou bien sur bouillon, ou en milieu spécial. Il est toujours très important de déterminer la dose minima mortelle d'un microbe pour l'insecte donné. Pour cette raison, on prend la culture de ce microbe, âgée de 24 heures. On en prépare une émulsion dans 1 cmc. d'eau physiologique stérile. Partant de cette émulsion épaisse, on fait une série de dilutions en ajoutant une ou plusieurs anses, ou même une ou plusieurs gouttes de l'émulsion initiale pour 1 cmc. d'eau physiologique.

Ainsi, on peut obtenir une série d'émulsions microbiennes de différentes concentrations et on injecte aux insectes 1/200 ou 1/100 de cmc. de chaque dose. Pour déterminer la dose minima mortelle d'un microbe, dont la virulence est inconnue pour l'insecte, on prépare d'habitude 3 dilutions : par exemple de V gouttes, d'une goutte et d'une anse. On les injecte aux trois lots d'insectes, et on regarde 24 ou 48 heures après le nombre de morts et de malades dans chaque lot. Si, parmi les insectes ayant reçu V gouttes et I goutte, tous sont morts et si les insectes injectés avec la dilution d'une anse sont restés vivants, on répète l'expérience en inoculant les doses intermédiaires entre 1 anse et I goutte, c'est-à-dire 2, 3, 4 anses. Ainsi on peut déterminer avec une précision suffisante la dose minima mortelle. Dans nos expériences avec l'immunité, nous employons toujours une dose de microbe supérieure à la dose minima mortelle.

6° Vaccination.

Pour l'immunisation active, nous employons d'habitude une culture chauffée pendant 30 minutes à 60°. Nous avons obtenu les meilleurs résultats d'immunisation avec les dilutions des vaccins voisins aux doses mortelles des mêmes cultures vivantes. D'autre part, pour certains microbes très virulents, il faut employer des concentrations de vaccins beaucoup plus fortes que les doses minima mortelles du microbe correspondant.

L'immunisation active peut être faite aussi à l'aide d'injection des cultures, âgées et atténuées par vieillissement, ou bien de doses très minimes des microbes virulents.

7° Prélèvement du sang.

Dans nos expériences avec l'immunité passive, nous injectons aux chenilles une ou deux fois le vaccin et, 24 heures après la dernière vaccination, nous recueillons tout le sang de ces chenilles. On prend soin de faire cette opération d'une manière aseptique. Dans ce but, on prend deux boîtes de Petri ; dans la première, on verse un peu de solution d'acide phénique à 2 ou 3 %. On remplit l'autre d'eau physiologique stérilisée. Ensuite, on plonge les chenilles dans le premier récipient et on les laisse 5 à 10 minutes, puis on les lave dans l'eau physiologique et on les met sur le papier-filtre stérile pour les sécher. Ensuite avec des ciseaux flambés, on coupe une des pattes antérieures et, dès qu'une goutte de sang surgit, on la recueille directement dans une pipette stérile. A l'aide d'une pression légère, on peut exprimer presque tout le sang de la chenille. Ainsi, pour avoir 1 cmc. de sang, il suffit de prendre de 30 à 40 grosses chenilles.

Le sang ainsi recueilli peut être injecté aux chenilles neuves, ou bien il peut être chauffé au bain-marie à 60°. De cette manière, on n'affaiblit pas son pouvoir immunisant et en même temps on est assuré qu'il est aseptique ; ainsi, on peut le conserver inaltéré pendant longtemps.

Pour prélever de petites quantités de sang, il suffit de piquer la paroi de la chenille avec le bout d'une pipette effilée. De cette manière, on peut prélever plusieurs fois le sang d'une même chenille. On obtient une plus grande quantité de sang si on pique la partie antérieure de l'insecte. On étale le sang sur une lame et on le colore après la fixation, ou bien on l'examine entre lame et lamelle à l'état frais. Pour prélever le sang des *Carausius*, on fait également avec une pipette effilée une piqûre sous une des pattes postérieures.

8° Coloration des frottis.

Après avoir préparé les frottis, on les fait sécher à l'air et on les fixe avec l'alcool méthylique ou bien par la chaleur.

Pour l'examen bactériologique du sang, nous employons une des méthodes usuelles de microbiologie (coloration au bleu de méthylène phéniqué, méthode de Gram, etc.). Dans nos expériences avec les bac. tuberculeux, nous colorons le sang suivant la méthode de Ziehl. Dans d'autres cas, nous employons des méthodes spéciales pour colorer des cils, des spores, etc.

Pour étudier la cytologie du sang et des réactions cellulaires, nous employons le colorant de Giensa ou bien de May-Grunvald-Unna, etc.

Pour compléter l'étude microscopique des réactions d'immunité chez les insectes, on est souvent obligé de faire des examens des coupes. Dans nos expériences nous nous sommes servis comme fixateur de liquide de Bouin ou bien de mélange de Duboscq-Brasil. On laisse les morceaux 24-72 heures dans le liquide fixateur, puis on les lave et on procède à l'inclusion à la paraffine suivant la méthode ordinaire. D'habitude, nous faisons les colorations avec glyhémalune de Mayer et l'éosine.

Pour examiner les coupes des insectes inoculés avec les bacilles tuberculeux, on procède à la coloration, suivant la méthode de Ziehl.

III

IMMUNITÉ NATURELLE

Jusqu'à présent, on a pu décrire relativement peu de maladies infectieuses chez les insectes. Il faut noter que ce sont surtout les insectes utiles chez qui on les rencontre le plus souvent. On connaît bien la flacherie et la pébrine des vers à soie et la loque américaine et européenne chez les abeilles.

Il est vrai qu'on a pu également observer quelques cas de véritables épidémies autochtones chez d'autres insectes. De même, plusieurs fois on a isolé les agents pathogènes provoquant des infections mortelles chez les insectes, et on a essayé de les employer dans la lutte contre les insectes nuisibles.

C'est en 1879 que Metchnikoff, le premier, étudia dans ce but « la muscardine verte » des larves d'*Anisoplia austriaca* Hb. En 1884, Krasilstchik a entrepris les premiers essais de la lutte bactériologique contre les insectes nuisibles dans les champs.

Depuis on a essayé plusieurs fois, en France et à l'étranger, d'employer divers microbes dans la lutte contre les insectes nuisibles. Souvent on a pu obtenir des résultats très satisfaisants, mais tout de même les infections qu'on provoquait n'étaient pas assez fortes et aucune de ces méthodes n'est entrée en pratique de l'agriculture.

Il semble que cet insuccès peut être expliqué par le fait que presque tous les insectes possèdent une immunité naturelle extrêmement prononcée contre les microbes. D'autre part, la vaccination naturelle pendant les épidémies autochtones aux virus atténués peut aussi jouer un rôle dans l'élaboration de l'immunité chez les insectes.

Dans son ouvrage *L'infection et l'immunité chez la mite d'abeille*, Métalnikov donne une liste de microbes dont il a étudié l'action

sur les chenilles de *Galleria mellonella*. Dans cette liste, tous les microbes sont répartis en trois groupes. Le premier contient les microbes contre lesquels les chenilles possèdent une immunité absolue. Ce sont en majorité les microbes très pathogènes pour l'homme et les animaux : bac. diphtérique, bac. tétanique streptocoque, staphylocoque, bac. pesteux, bac. tuberculeux : humain, bovin, pisciaire et aviaire, bac. paratuberculeux, bac. pseudotuberculeux, etc.

Le deuxième groupe contient les microbes envers lesquels les chenilles possèdent une immunité relative, c'est-à-dire qui sont très bien supportés en doses faibles, mais qui, injecté en fortes doses, provoquent la maladie mortelle. Parmi les microbes de ce deuxième groupe, on trouve aussi ceux qui sont très pathogènes pour les mammifères : bac. typhique et paratyphique, gônocoque, v. septique, bac. charbonneux, bac. dysentérique, etc. Le troisième groupe contient les microbes extrêmement virulents pour les chenilles, vis-à-vis desquels elles ne manifestent aucune immunité. Ce sont, dans la plupart des cas, des saprophytes (*bac. coli*, *bac. subtilis*, etc.) ou bien des microbes isolés des insectes : *bac. Galleria*, *Coccobacillus Ellingeri*, etc.

Ici, nous donnons quelques exemples d'immunité naturelle des insectes vis-à-vis des microbes pathogènes pour les vertébrés. L'immunité antituberculeuse chez les insectes présente un intérêt particulier ; nous étudierons spécialement cette question, aussi bien que l'immunité antitoxique. La fin de ce chapitre est consacrée à l'étude des variations et des modalités de l'immunité naturelle.

Immunité envers les microbes pathogènes.

Metchnikoff le premier a pu constater que les insectes possèdent une immunité remarquable envers les microbes pathogènes pour les mammifères. Ainsi, il constata que les larves d'*Oryctes nasicornis* supportent très bien les injections de grandes quantités de bac. charbonneux et de bac. diphtérique. Mais, d'autre part, elles succombent à l'infection avec le Vibron cholérique. Kovalevsky constata que le grillon champêtre est réfractaire à la tuberculose aviaire, étant sensible au charbon.

Nous avons déjà mentionné les travaux de Métalnikov d'après lesquels les chenilles de *Galleria mellonella* possèdent une, immunité remarquable vis-à-vis des microbes les plus pathogènes pour les animaux à sang chaud.

Wendelstadt et Fellmer ont pu constater l'immunité envers la *Trypanosoma Nagana* chez les scarabées : le *Cychrus rostratus* et l'*Aphodius*. De même, Ivanow a démontré l'immunité absolue des chenilles de *Galleria mellonella* envers différents types de Trypanosomes.

On a beaucoup étudié le rôle des mouches dans la transmission des maladies infectieuses. Dans ces études, on a pu constater l'immunité parfaite des mouches adultes, aussi bien que de leurs larves, envers plusieurs microbes pathogènes. Les mouches en ingérant les microbes ne deviennent jamais malades. Ainsi, Wollmann a nourri les mouches à viande (*Calliphora vomitoria*), les mouches vertes (*Lucilia cesar*) et les mouches domestiques (*Musca domestica*) avec des cultures de bac. typhique, de bac. dysentérique (*Shiga*), de bac. charbonneux et de bac. tuberculeux. Dans une de ces expériences, l'auteur a pu retrouver les bac. dysentériques et les bac. typhiques chez la mouche domestique 23 jours après la contamination.

Cao a fait ingérer aux mouches les cultures de *bac. prodigiosus*, de *bac. enteridis*, de staphylocoque, de bac. pyocyanique et de v. de choléra. Lord a nourri les mouches sur des crachats tuberculeux. Quinze jours après, les déjections de ces mouches contenaient des bac. tuberculeux. Chaque tache fécale contenait de 2.000 à 3.000 bacilles.

Marchoux a nourri les mouches avec des produits contenant des bacilles lépreux, et il put les retrouver vivants dans l'intestin des mouches 4 jours après l'infection. De même, Charles Nicolle, Guénod et Blanc ont pu démontrer la possibilité de transmission du trachome par les mouches, 24 heures après le contact avec l'œil malade.

Tejera a fait des expériences semblables avec des blattes. Il a pu retrouver dans les excréments des blattes des bacilles tuberculeux 40 jours après l'ingestion des crachats tuberculeux ; de même il a retrouvé après l'infection expérimentale dans leurs déjections des bac. dysentériques (Flexner), des bac. d'Eberth, des *Entamæba dysenterica*.

Nous nous bornerons à citer les cas prouvant l'immunité extraordinaire de certains insectes contre les agents microbiens les plus dangereux. Cependant on connaît encore un très grand nombre d'insectes piqueurs et suceurs qui jouent un rôle important dans la transmission des maladies. Tous ces insectes possèdent aussi une immunité extraordinaire envers les maladies qu'ils transmettent. Cette immunité est caractérisée par une sorte de symbiose ; souvent les microbes ne sont pas détruits, mais au contraire ils se développent dans l'organisme de l'insecte sans provoquer la maladie de celui-ci.

Nous avons beaucoup étudié l'immunité naturelle chez les *Carausius morosus*. Ils supportent des injections de très grandes doses de microbes très virulents pour les mammifères.

Nous avons pu constater l'immunité absolue chez les *Carausius* envers le bac. typhique et paratyphique, le bac. coli, le staphylocoque, les *Trypanosoma Sura*, etc.

Immunité antituberculeuse.

On sait que le bacille tuberculeux possède une sorte de capsule composée de substances grasses, qui ressemblent par leurs propriétés à la cire. On peut supposer que c'est justement cette capsule qui le rend extrêmement résistant. Metchnikoff, qui a voulu ramener toutes les réactions d'immunité à des phénomènes de digestion, a eu le premier l'idée d'étudier l'immunité de la mite d'abeille envers la tuberculose. Il a eu l'idée que les insectes qui se nourrissent de cire doivent digérer aussi bien les bacilles tuberculeux avec leurs membranes cireuses.

Métalnikov a repris l'idée de Metchnikoff, partant de ces hypothèses, il a entrepris une étude détaillée de l'immunité antituberculeuse chez les chenilles de *Galleria mellonella* et, depuis 1906, il publia toute une série de travaux sur ce sujet. Cet auteur a pu constater l'immunité absolue de ces chenilles envers les bacilles tuberculeux et la tuberculine. Après être inoculées, les chenilles continuent à vivre normalement et se transforment en chrysalides et en papillon. Métalnikov a pu injecter les bacilles de type humain, bovin, les bacilles tuberculeux aviaires, pisciaires et autres bacilles acido-résistants, comme par exemple les bacilles lépreux.

Dans toutes ces expériences, Métalnikov a pu observer que les bacilles tuberculeux sont phagocytés et digérés par les leucocytes des chenilles avec une surprenante rapidité.

Suivant Métalnikov, la phagocytose commence déjà un quart d'heure après l'injection des bacilles tuberculeux. Un peu plus tard, on voit la formation des cellules géantes : les phagocytes s'accolent entre eux, d'autres leucocytes entourent cette cellule en formant ainsi autour d'elle une membrane ou capsule.

A l'intérieur de cette cellule, on voit les masses des bacilles tuberculeux, qui se transforment en un pigment brun-noir. Ces cellules géantes peuvent être comparées avec les cellules du même nom, qu'on rencontre pendant l'évolution de la tuberculose chez les mammifères. La formation de ces cellules chez les chenilles de *Galleria mellonella* commencent de 2 à 3 heures après l'inoculation, tandis qu'on les observe chez les mammifères seulement plusieurs mois après l'infection.

La quantité de ces capsules est variable, mais quelquefois on peut les remarquer à l'œil nu sous le tégument de la chenille. L'examen histologique prouve que ces capsules ne sont pas détruites pendant la métamorphose, on les retrouve chez les chrysalides et les papillons. A leur intérieur, on retrouve toujours le pigment brun-noir qui devient plus homogène et liquide.

Métalnikov explique cette destruction de bacilles tuberculeux par l'action d'un ferment lipolytique et il a pu démontrer sa présence dans le sang de ces chenilles.

Dans son travail sur le rôle de la lipase dans la défense antibacillaire, N. Fiessinger a pu prouver *in vitro* l'action de ce ferment retiré de la chenille de *Galleria mellonella* sur les bacilles tuberculeux.

Dans ce but, il a mis des bacilles tuberculeux en contact avec la lipase des chenilles de *Galleria mellonella* pendant 48 heures, puis ces bacilles ont été soumis à l'action de la trypsine pendant 24 heures. Après ce traitement, les bacilles présentaient des figures de bactériolyse intense. On pouvait à peine retrouver quelques rares bacilles, colorés en rose pâle par Ziehl, les bacilles avaient entièrement disparu, ils étaient remplacés par de nombreuses granulations colorées en violet par le Gram. Dans les tubes de contrôle, où une seule action fermentative lipolytique ou protéolytique avait été utilisée, les bacilles de Koch avaient

conservé leur aspect normal et présentaient encore leur coloration rouge vif par la fuchsine phéniquée.

Puis, Fiessinger étudia le ferment extrait des papillons de *Galleria mellonella* et il constata que celui-ci se montre très peu actif et que les digestions de la cire sont très peu marquées.

D'après les résultats de ces expériences, Fiessinger arrive aux conclusions que « la chenille de la mite, dont le ferment lipolytique est actif sur la cire d'abeille et sur la cire de bacille, résiste avec facilité contre l'attaque bacillaire. L'activité de son ferment tient probablement à sa nourriture. Car la mite (papillon) elle-même, qui ne se nourrit pas de cire, en possède des quantités bien moindres. Il y a là une appropriation fonctionnelle, le ferment apparaît quand la chenille a besoin de sa présence pour assimiler la cire de la ruche d'abeille ».

Pertzoff a également étudié la lipase des chenilles de *Galleria mellonella*. Il a pu obtenir des résultats analogues : cette lipase exerce une action hydrolysante sur des bacilles tuberculeux tués, elle provoque la dissociation en granules et très souvent une disparition de l'acido-résistance des bacilles vivants.

De même, Fiessinger a repris les expériences de Métalnikov, en injectant les bacilles tuberculeux aux chenilles de *Galleria mellonella* et il apporte une entière confirmation à ses recherches, quant à la précocité de la phagocytose et à la rapidité de la bactériolyse. Cet auteur conclut que « le bacille est protégé contre les ferments protéolytiques par son enveloppe grasseuse; lorsque cette enveloppe grasseuse disparaît, le bacille est vulnérable ».

Il semble donc que dans le sang des chenilles il existe une lipase qui dissout l'enveloppe grasseuse des bacilles tuberculeux; d'autre part, les leucocytes contiennent un ferment protéolytique, qui achève la digestion de ces microbes.

Mais il est assez difficile de déterminer exactement le temps nécessaire pour cette digestion, après laquelle les bacilles perdent complètement leur virulence. Ainsi Fiessinger, en inoculant les bacilles tuberculeux aux chenilles de *Galleria mellonella*, a pu prouver qu'ils restaient encore virulents après 8 heures. Le produit de broyage de ces chenilles injecté aux cobayes détermina chez eux la tuberculose.

Métalnikov a injecté à 3 cobayes le produit de broyage de 20 chenilles de *Galleria* 5 jours après les avoir inoculées avec

de fortes doses de bacilles tuberculeux ; 3 mois après, un de ces cobayes est mort tuberculeux, deux autres restèrent vivants et bien portants.

Métalnikov explique le fait de la persistance de bacilles tuberculeux dans le sang des chenilles par de trop grandes quantités de bacilles injectés, ou bien par un défaut de préparation de l'émulsion des bacilles, qui doit être très bien triturée.

Les expériences sur l'immunité antituberculeuse absolue chez les chenilles de *Galleria mellonella* ont été confirmées par Hollande, Nedrigailoff, Cameron et autres ; Mlle Biron a pu injecter à une chenille de *Galleria* jusqu'à 1 mgr.-1 mgr. 5 de bacille tuberculeux de la souche Vallée. Cette souche est très virulente pour les animaux (1/200.000 mgr. de ces bacilles est la dose mortelle pour un cobaye).

On a pu constater l'immunité chez d'autres insectes que chez la mite d'abeille. Fiessinger a fait des expériences avec la tuberculose sur d'autres chenilles que *Galleria mellonella* et il a pu constater chez eux une phagocytose des bacilles tuberculeux, mais elle se produisait plus tardivement.

En 1914, Métalnikov a publié ses observations sur l'immunité antituberculeuse chez la chenille d'*Achroea grisella*, une autre petite mite d'abeille, et chez *Bombyx molitor*.

Depuis, Hollande a pu constater l'immunité antituberculeuse chez les chenilles de *Saturnia pavonia*, *Lithosia complana*, *Aporia crataegi*, *Pieris brassicæ*. Toutes ces chenilles sont complètement réfractaires à l'infection tuberculeuse ; de même elles supportent sans inconvénient des injections de grandes doses de tuberculine. Ainsi Hollande a pu injecter aux chenilles de *Saturnia pavonia* et de *Vanessa urticæ* 0 cmc. 2 de tuberculine. Aghar a pu également montrer l'innocuité des bacilles tuberculeux et de la tuberculine pour les chenilles d'une noctuelle vivant sur l'aubépine.

Métalnikov et Chorine ont constaté l'immunité très prononcée envers la tuberculose chez les chenilles de *Pyrausta nubilalis*.

Toumanoff, qui étudia l'immunité antituberculeuse chez les *Carausius morosus*, a trouvé que les injections des grandes doses des bac. tuberculeux ne produisent aucun effet nocif chez ces insectes. Les bacilles sont encapsulés dans des cellules géantes et

des phagocytes, mais leur digestion est très lente. Toumanoff a pu les retrouver dans les coupes des organes des *Carausius* faites deux mois après l'inoculation.

De même, Hollande a pu retrouver les bacilles tuberculeux inaltérés dans le sang de la chenille *Bombyx rubi* un mois après l'infection. Nous avons déjà noté qu'on a pu retrouver les bacilles tuberculeux dans l'intestin des blattes 40 jours après l'infection, et chez les mouches 15 jours après l'infection.

Il faut dire que c'est seulement chez les *Galleria mellonella* qu'on a étudié en détail l'immunité antituberculeuse. Elle n'est pas encore bien connue chez d'autres insectes.

Nous avons repris les expériences de Toumanoff sur l'immunité antituberculeuse des *Carausius morosus*. Dans ce but, nous avons entrepris une série d'expériences et nous avons pu constater que ces insectes supportent très bien les injections de grandes quantités de bacilles tuberculeux. Nous avons pu injecter aux jeunes *Carausius* de 50 cgr. jusqu'à 5 mgr. de bacilles tuberculeux purs provenant d'une culture très virulente. La quantité des bacilles injectés représente 1/100 du poids d'insectes. Les *Carausius* injectés ne manifestaient aucun signe de maladie et continuaient de se développer normalement, ils ont commencé à pondre. Ces insectes supportent également jusqu'à 1/100 cmc. de tuberculine pure. Des doses plus élevées provoquent une intoxication et la quantité de 3/100 de tuberculine les tue en 24-48 heures.

Mais nous avons pu observer un fait intéressant, que les *Carausius* injectés antérieurement avec les bacilles tuberculeux sont beaucoup plus sensibles envers la tuberculine.

EXPÉRIENCE n° 1

Le 12 janvier, 3 *Carausius* ont été inoculés avec des faibles doses du bacille tuberculeux homogène.

Trois mois après, le 12 avril, ces mêmes *Carausius* ont été injectés avec 1/100 cmc. de la tuberculine pure.

Vingt-quatre heures plus tard, tous les insectes sont morts.

Ce fait intéressant montre que l'immunité chez les *Carausius* envers la tuberculose n'est pas complète. Elle est très différente de celle chez la mite d'abeilles. Tandis que chez celle-ci on

observe la destruction complète des bacilles et leur transformation en un pigment brun-noir, chez les *Carausius* les bacilles sont également phagocytés, mais ils conservent leur acidorésistance à l'intérieur même des leucocytes. Nous avons pu retrouver dans le sang de ces *Carausius* quatre mois après l'inoculation plusieurs bacilles tuberculeux, qui ont conservé leur aspect et leur acido-résistance. Dans le sang d'autres *Carausius* qui ont reçu de plus fortes doses des bacilles tuberculeux, nous avons pu retrouver trois mois après l'inoculation à l'intérieur des leucocytes des quantités énormes des bacilles.

Le nombre et l'aspect de ces bacilles permet même de supposer qu'ils se développent dans le sang de ces insectes.

L'étude du sang des *Carausius* aussitôt après l'inoculation montre des réactions cellulaires très intenses. Déjà 30 minutes après l'inoculation, on voit le commencement de la phagocytose ; une heure après, on observe le début de la formation des cellules géantes, décrites par Métalnikov chez les *Galleria* ; en même temps les phagocytes sont bourrés de bacilles, mais nous n'avons pas pu remarquer la digestion de ces bacilles et leur transformation en un pigment brunâtre.

Il faut noter que, presque aussitôt après l'inoculation, les bacilles sont tous accolés en masses plus ou moins nombreuses et entourés par les leucocytes ; il n'y a que très peu de bacilles libres. Cependant, si au bout de quelques jours on répète l'inoculation des bacilles, on peut les observer libres dans le sang des *Carausius* même une heure après.

D'après les faits exposés dans le présent chapitre, on voit que les insectes et en particulier les chenilles de *Galleria mellonella* possèdent une immunité exceptionnelle envers la tuberculose.

Tout naturellement se pose la question : peut-on conférer cette immunité aux autres animaux et à l'homme ? Les premières expériences dans cette direction ont été effectuées par Métalnikov. Il a essayé de traiter les cobayes tuberculeux avec du sang ou des extraits de chenilles normales et de chenilles préalablement immunisées par les bacilles tuberculeux. Les cobayes ainsi traités ont augmenté de poids et pendant plusieurs mois ils ont survécu aux cobayes témoins. Les cobayes témoins mouraient

de 1 à 2 mois après l'inoculation, tandis que les cobayes traités vivaient pendant 5, 6, 8 et même 12 mois après l'inoculation.

Dublet a repris ces expériences, il a traité des cobayes tuberculinisés en leur injectant des extraits glycerinés de chenilles de *Galleria mellonella*, mélangés avec un « extrait glyceriné d'hépatopancréas obtenu en présence de chaux ». Suivant Dublet, les résultats de ces injections furent excellents, les cobayes inoculés ont été guéris et les cobayes neufs sont devenus immunisés contre la tuberculose.

De même, Hollande a essayé de traiter les cobayes tuberculeux par des injections répétées des extraits et du sang des chenilles *Saturnia pavonia*, préalablement injectées avec des bac. tuberculeux.

Cet auteur n'a pas pu remarquer d'influence notable des injections des extraits des chenilles, par contre il a constaté que « l'action du sang des chenilles de *Saturnia pavonia* vaccinées contre les bac. de Koch sur certaines lésions tuberculeuses des cobayes tuberculinisés expérimentalement paraît donc manifeste ; un processus favorable de l'évolution tuberculeuse doit être ici enregistré ; toutefois, il ne s'agit pas là de guérison.

« Les lésions des trois cobayes traités par le sang des chenilles ont montré une sclérose manifeste périfolliculaire, caractérisée surtout dans les ganglions inguinaux et lombaires ; l'augmentation évidente du poids de deux cobayes traités plaide en faveur du traitement ».

Les résultats de ces essais sont extrêmement intéressants et ils ouvrent une voie nouvelle dans la lutte antituberculeuse.

Immunité antitoxique.

Metchnikoff a constaté l'innocuité absolue de la toxine tétanique pour les larves d'*Oryctes nasicornis*. Mais elle reste dans leur sang sans être neutralisée pendant plusieurs semaines après l'injection. De même, Métalnikov a pu constater que l'injection de cette toxine est complètement inoffensive pour les chenilles de *Galleria mellonella*.

De plus, cet auteur a constaté l'immunité absolue de ces chenilles envers les filtrats des cultures les plus virulentes, pour les

insectes comme bac. proteus, bac. antrocoïdes, bac. subtilis, bac. dysentérique.

Chorine a repris ces expériences sur les chenilles de *Pyrausta nubilalis* et aussi sur celles de *Galleria mellonella*. Il a pu également constater l'innocuité absolue de la toxine tétanique pour ces chenilles.

D'autre part, il a observé que 50 % des chenilles de *Pyrausta nubilalis* injectées avec 1/100 de centimètre cube de la toxine diphtérique (la dose mortelle de cette toxine pour un cobaye est environ 1/500 de centimètre cube) mouraient un mois et demi après l'inoculation.

De même, les chenilles de *Galleria mellonella* inoculées avec 1/500 de centimètre cube de cette toxine (c'est-à-dire avec dose mortelle pour un cobaye de 300 gr.) mouraient de 20 à 40 jours après. Suivant Chorine, des inoculations répétées de fortes doses de toxine raccourcissent sensiblement l'incubation. Deux injections de 1/50 de centimètre cube de la toxine à l'intervalle de deux jours font mourir les chenilles au bout de 24 à 48 heures après la deuxième injection.

Aoki et Schigasaki ont constaté que le *bacillus Sotto* donne une toxine qui agit sur les vers à soie même par ingestion.

Toumanoff a pu démontrer que le filtrat d'*Aspergillus flavus* est également très toxique pour les abeilles, même *per os*.

Par contre, la toxine botulinique est complètement inoffensive pour les mouches *Lucilia cæsar* et *Chrysomya macellaria*.

Nous même avons pu constater que les *Carausius morosus* possèdent une immunité très prononcée envers les toxines.

Nous citons ici deux de nos expériences faites avec la toxine téténique et la toxine diphtérique.

EXPÉRIENCE n° 2

Le 21 février, 4 *Carausius* ont été inoculés avec 1/70 de cmc. de toxine téténique fraîche (dose mortelle pour un cobaye de 300 gr., 1/60.000 de cmc.).

Le 21 mars, tous les *Carausius* sont bien portants, ils ont commencé à pondre.

EXPÉRIENCE n° 3

Le 25 mars, 6 *Carausius* ont été inoculés avec 1/70 de cmc. de toxine diphtérique fraîche (dose mortelle pour un cobaye de 300 gr., 1/2.700 de cmc.).

Le 25 mars, tous les *Carausius* sont bien portants, ils ont commencé à pondre.

De cette dernière expérience, on voit que les *Carausius* supportent très bien les injections des toxines.

D'après les expériences de Chorine il s'ensuit que la dose mortelle de la toxine diphtérique pour une chenille est à peu près égale à la dose minima mortelle pour un cobaye de 300 gr. D'autre part, nous avons injecté aux *Carausius* des doses de la toxine diphtérique à peu près égales à 40 doses minima mortelles pour 1 cobaye de 300 gr. sans produire aucun effet nocif chez ces insectes. Donc, ils sont beaucoup plus résistants aux toxines que les chenilles de *Galleria* et de *Pyrausta*.

Le fait même qu'un *Carausius* d'un gramme supporte très bien une dose presque 1.000 fois plus forte que la quantité de toxine tuant un cobaye de 300 gr. nous montre l'immunité antitoxique remarquable des insectes.

Cependant, cette immunité dépend de l'espèce et varie avec la toxine.

Variations et modalités de l'immunité naturelle.

1° RÔLE DES MICROBES. — Nous avons déjà noté le fait que les microbes et les toxines très virulents pour l'homme, sont souvent complètement inoffensifs pour les insectes. Tels sont entre autres le bac. tuberculeux, la toxine tétanique. Par contre, la plupart des microbes virulents pour les insectes ne le sont pas pour les animaux à sang chaud. Tels sont *b. subtilis*, *bact. megaterim*.

D'autre part, on ne peut pas faire de ces observations une règle absolue, car il existe de nombreuses exceptions. Ainsi, dans la collection de l'Institut Pasteur, nous avons trouvé une souche de *Cholera B* qui est extrêmement virulente pour les insectes. De même, le microbe rouge de genre *Prodigiosus*, un des plus viru-

lents pour différentes espèces d'insectes, injecté à un cobaye même dans des quantités minimales, le tue au bout de 24 heures.

Il est donc impossible de diviser les microbes, suivant leur virulence, en microbes des insectes et en microbes des mammifères.

2° IMMUNITÉ D'ESPÈCE. — De même, parmi les microbes pathogènes pour les vertébrés, leur virulence dépend de l'espèce animale. Ainsi, le streptocoque est très pathogène pour une souris et relativement peu virulent pour un cobaye. Les mêmes observations peuvent être faites chez les insectes. Ainsi, Chatton a pu constater que le *Coccobacillus acridiorum* de d'Hérelle, très pathogène pour les criquets et beaucoup d'autres insectes, est presque inoffensif pour les vers à soie. D'après Chorine, les spores d'une microsporidie appartenant au genre *telehania*, ajoutées à la nourriture des chenilles du *Vanessa urticae*, suffisent pour provoquer une infection dans 50% des cas. Mais les mêmes spores injectées aux chenilles de *Galleria* ne provoquent aucune maladie chez ces insectes. De même, nous avons pu constater que le colibacille, très virulent pour les chenilles de *Galleria mellonella*, est complètement inoffensif pour les *Carausius morosus*.

Ici nous citons une de nos expériences, qui montre l'immunité absolue de *Carausius* envers ce microbe.

EXPÉRIENCE n° 4

Le 10 février, 5 *Carausius* ont été inoculés avec 1/50 de culture sur gélose du Colibacille.

Le 10 mars, tous les *Carausius* sont vivants.

EXPÉRIENCE n° 5

Le 10 février, 10 chenilles de *Galleria mellonella* ont été inoculées avec 1/2.000 de culture sur gélose du Colibacille.

Le 11 février, toutes les chenilles sont mortes.

En comparant ces deux expériences, on voit que les *Carausius* supportent très bien les injections du colibacille en quantité

40 fois plus élevée que la dose mortelle pour une chenille de *Galleria*.

Métalnikov et Chorine, en comparant l'immunité naturelle chez les chenilles de *Pyrausta* et chez celles de *Galleria mellonella* arrivent aux conclusions que les premières sont beaucoup plus sensibles au virus microbien que les *Galleria*. Ainsi on sait que les chenilles de *Pyrausta* peuvent être infectées facilement *per os*, tandis que les *Galleria* sont complètement réfractaires à ce mode d'infection.

D'autre part, nous avons trouvé qu'elles sont beaucoup moins sensibles envers la souche de *Cholera B* que les chenilles de *Galleria mellonella*.

EXPÉRIENCE n° 6

Dix chenilles de *Pyrausta nubilalis* ont été injectées avec 1/200 de l'émulsion de *Cholera B* (dilution 1 anse sur 100 cmc.). En même temps, 10 chenilles de *Galleria mellonella* ont été injectées avec la même dose de la même dilution.

Vingt-quatre heures après, toutes les chenilles de *Galleria* sont mortes, tandis que toutes les chenilles de *Pyrausta* restent vivantes et continuent leur développement normal.

Les chenilles de *Galleria mellonella* injectées avec 1/200 de cmc. d'une émulsion de bac. de *Cholera B* (dilution 1 anse pour 10.000 cmc.) sont mortes au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures.

D'après cette expérience, on voit que les chenilles de *Galleria*, qui possèdent en général une immunité beaucoup plus prononcée envers le virus microbien, sont 100 fois plus sensibles vis-à-vis de la culture de *Cholera B*.

3° STADE DU DÉVELOPPEMENT. — L'immunité chez les insectes ne dépend pas seulement de l'espèce, mais aussi du stade de développement.

Schigasaki a étudié chez la mite d'abeille aux différents stades du développement sa résistance envers les injections du microbe de Danysz.

Cet auteur a constaté que les jeunes chenilles sont les plus résistantes ; elles le sont deux fois moins immédiatement avant leur métamorphose, les jeunes chrysalides 30 fois et les vieilles chrysalides 60 fois moins résistantes.

La résistance des papillons augmente de nouveau et ils sont seulement 8 fois plus sensibles que les chenilles.

4° VARIATIONS THERMIQUES ANTÉRIEURES A L'INFECTION. — De même que chez les vertébrés, chez les insectes les conditions extérieures font varier l'immunité naturelle.

EXPÉRIENCE n° 7

On a pris trois lots de 18 chenilles de *Galleria mellonella*.

Le premier de ces lots a été mis à l'étuve à 39°, le deuxième à l'étuve à 30° et le troisième à la glacière à + 2°.

Le lendemain, toutes ces chenilles ont été portées à la température du laboratoire et une heure plus tard elles ont été inoculées avec une dose très minime du microbe de Danysz. Puis on les a mises à la température de 30°.

Au bout de vingt-quatre heures, toutes les chenilles, qui étaient préalablement exposées à la température de 30°, sont mortes. Parmi les chenilles, qui avaient été à la température basse, 17 sont mortes et 1 est restée vivante.

Parmi les chenilles qui avaient été exposées à la température de 30°, une seulement est morte et 17 sont restées vivantes.

5° CARACTÈRE INDIVIDUEL. — D'autre part, non seulement les conditions extérieures et le stade du développement de l'insecte ont une certaine influence sur l'immunité, mais aussi le caractère et l'état de chaque individu particulier jouent un rôle dans sa résistance envers l'infection. Ainsi, très souvent, en inoculant les mêmes doses d'un microbe à un lot d'insectes et en les plaçant dans les mêmes conditions, on remarque qu'une partie de ces insectes meurt dans un délai de temps beaucoup plus court que les autres. De même, il arrive parfois qu'un ou deux parmi les insectes inoculés résistent à l'injection de la dose de microbe qui est mortelle pour le reste.

6° MODE D'INFECTION. — Il faut noter que l'immunité des insectes dépend essentiellement du mode d'infection. Dans une série d'expériences, nous avons essayé d'infecter les *Carau-sius per os*. Les résultats de ces recherches, faites sur plus de 350 insectes avec différents microbes, ont montré que les *Carau-sius* sont réfractaires envers ce mode d'infection. Nous n'avons

pas pu provoquer la maladie de cet insecte en introduisant dans son pharynx jusqu'à 1/40 d'une émulsion préparée avec une culture du microbe rouge de Métalnikov. Tandis que l'injection de 1/15.000 de même émulsion le tue au bout de 24 heures.

Les chenilles de *Galleria mellonella* sont aussi presque complètement réfractaires envers l'infection *per os*, étant très sensibles vis-à-vis de certains microbes introduits sous leur tégument. Il suffit de faire une toute petite lésion sur le tégument de ces chenilles et de mettre celles-ci dans un bocal avec un papier-filtre, mouillé dans l'émulsion du microbe rouge de Métalnikov, pour obtenir de 40 à 70 % de chenilles infectées.

Cette expérience montre une extrême sensibilité des *Galleria mellonella* envers ce microbe par la voie parentérale ; d'autre part, elles présentent une résistance complète à l'infection par voie digestive.

Par contre, les chenilles de *Pyrausta nubilalis* s'infectent très facilement *per os*.

On voit donc qu'il y a une différence essentielle dans les moyens de contamination de ces deux espèces de chenilles. Comment peut-on expliquer la cause de l'immunité par la voie buccale chez les chenilles de *Galleria* contre les microbes envers lesquels elles sont si sensibles ? On peut trouver l'explication de cette différence en observant les conditions du développement et de la vie de ces deux espèces de chenilles. On sait que les *Galleria* sont les parasites des ruches. Elles passent leur vie dans des conditions défavorables. Leur nourriture se compose de la cire, qui est souvent sale et infectée ; elles mangent aussi différents débris, leurs cadavres et même leurs propres excréments. On peut supposer que les conditions de leur vie, et surtout cette nourriture, leur confèrent une certaine résistance, telle qu'elles deviennent immunisées à l'égard des infections par voie digestive.

Par contre, les chenilles de *Pyrausta nubilalis* vivent dans les tiges de maïs et autres plantes. Elles mangent la moelle qui ne contient presque pas de microbes. Cette nourriture presque stérile ne peut pas provoquer l'immunité et c'est pour cette raison que l'ingestion de la nourriture infectée provoque des maladies mortelles chez les *Pyrausta*.

dépend aussi des conditions dans lesquelles les insectes sont placés après l'infection. L'état hygrométrique et la température ont une influence indiscutable sur la résistance des insectes.

EXPÉRIENCE n° 8

Le 24 mars, 10 chenilles ont été inoculées avec 1/150 de cmc. d'une émulsion de bac. Danysz (concentration 1/2 anse pour 1 cmc.). Le même jour encore, 5 chenilles ont été inoculées avec 1/150 de cmc, avec une émulsion de bac. de Danysz, deux fois plus concentrée que la première (1 anse pour 1 cmc.).

1° 5 chenilles inoculées avec la concentration faible du microbe ont été portées à l'étuve à 30°.

2° 5 autres chenilles inoculées avec la même concentration ont été portées à l'étuve à 39°.

3° 5 chenilles qui ont reçu une double dose de microbe, ont été laissées à la température du laboratoire (à 20°).

Le lendemain, toutes les chenilles portées à la température de 39° sont mortes. Parmi les 5 chenilles, portées à la température de 30°, 3 sont mortes, 2 restèrent vivantes et les 5 chenilles, inoculées avec la dose double, mais gardées à la température du laboratoire, sont restées vivantes.

8° DIFFÉRENTES SOUCHES D'UN MÊME MICROBE. — De même, la résistance des insectes dépend non seulement du microbe injecté, mais varie aussi suivant les différentes souches du même microbe.

Un exemple frappant nous est donné par le vibrion cholérique.

Dans ses expériences, Métalnikov a noté que V. cholérique M est presque inoffensif pour les chenilles de *Galleria mellonella* ; la souche de vibrion cholérique S de même est très peu virulente. Par contre, il a noté que la souche de *Cholera* Pot est très virulente.

Nous avons recherché la virulence d'une autre souche du *Cholera* B et nous avons trouvé qu'elle est une des cultures les plus pathogènes pour les chenilles de *Galleria mellonella*. Sa virulence pour ces chenilles peut être comparée seulement avec le microbe rouge de Métalnikov et le coccobacille d'Ellinger.

L'injection de 1/100 de cmc. d'une dilution d'une anse dans 100.000 cmc. suffit pour provoquer la mort de la chenille en 24-48 heures.

9° ACIDITÉ DU MILIEU. — Le milieu de culture a une certaine influence sur la virulence du microbe. Ainsi, Chorine a pu démontrer que l'acidité du milieu joue un rôle important dans l'infection expérimentale chez les insectes. Il a trouvé que chez les chenilles de *Pyrausta* l'ingestion de la culture de *Coccobacillus Ellingeri*, faite dans le bouillon à pH 6,5 fait mourir 65 % des chenilles, tandis que la même culture faite dans le bouillon à pH 7,2 fait mourir 90 % des chenilles.

10° PASSAGES. — D'après les expériences chez les vertébrés, on sait qu'il suffit de faire quelques passages d'un microbe sur un animal pour exalter notablement la virulence du même microbe. On a pu constater des résultats analogues dans certaines expériences chez les insectes. Ainsi, d'Hérelle et Sargent ont pu exalter la virulence de *Coccobacillus acridiorum* après quelques passages sur les criquets.

D'autre part, Métalnikov et Chorine ont fait 86 passages de *Coccobacillus Ellingeri* sur les chenilles de *Pyrausta* sans pouvoir augmenter sa virulence pour ces chenilles.

De même, nous avons fait 13 passages du vibron cholérique sur les *Carausius* et 20 passages du microbe de Danysz sur les chenilles de *Galleria*. Dans les deux cas, la virulence de ces microbe était exactement la même qu'avant le passage.

IMMUNITÉ ACQUISE

I. — Immunité active.

Presque en même temps, Paillot et Métalnikov ont pu démontrer que les insectes peuvent être immunisés envers les injections de doses mortelles de microbes.

Paillot a immunisé la chenille d'*Agrotis* avec de faibles doses de *Bac. melolonthae non liquefaciens* vis-à-vis des doses sûrement mortelles du même microbe et Métalnikov a pu immuniser la chenille de *Galleria mellonella* contre différents microbes pathogènes en lui injectant préalablement les émulsions chauffées de ces cultures.

Depuis ces premières expériences, faites en 1919 et 1920, toute une série de travaux sont parus sur l'immunité acquise chez les insectes. Métalnikov et ses élèves Chorine, Chigasaki, Gaschen, Ermolaëff, Ischimori, Kitadjima, Tateiva et Toumanoff, Paillot, Hollande avec Aghar et Vicher, Glaser, Zotta et autres ont fait de nombreuses expériences sur cette question.

Presque toutes les recherches sur l'immunité acquise chez les insectes ont été faites sur différentes espèces de chenilles; d'autre part, Métalnikov et Toumanoff ont pu immuniser les abeilles, et nous avons établi la possibilité d'immuniser les Phasmides *Carausius morosus*.

Ici nous citons deux de nos premières expériences sur l'immunisation de ces insectes.

EXPÉRIENCE n° 9

Le 9 février, 2 *Carausius* reçoivent 1/100 de cmc. d'une culture de *Vibrio Leonardi* chauffée à 60°.

Le 23 février, on injecte encore une fois la même quantité de vaccin.

Le 25 février, ces deux *Carausius* et 2 *Carausius* de contrôle sont inoculés avec une dose mortelle de *Vibrio Leonardi*.

Vingt-quatre heures plus tard, les 2 *Carausius* vaccinés sont vivants, tandis que ceux du contrôle sont morts.

EXPÉRIENCE n° 10

Du 13 au 23 février, 2 *Carausius* reçoivent 4 injections du vaccin de *B. Mégaterium*.

Le 25 février, ces deux *Carausius* et 2 *Carausius* de contrôle non vaccinés sont inoculés avec une dose mortelle de *B. Mégaterium*.

Vingt-quatre heures plus tard, les 2 *Carausius* vaccinés sont vivants, tandis que ceux du contrôle sont morts.

MODE D'IMMUNISATION. — Il résulte de ces expériences que l'immunisation peut être faite au moyen d'injection d'une culture chauffée à 60°. De même, d'autres méthodes de vaccination peuvent être employées : on peut injecter une culture âgée atténuée par vieillissement, ou bien on injecte une culture jeune, mais en quantité très inférieure à la dose minima mortelle.

De même, Métalnikov a pu immuniser les chenilles de *Galleria mellonella* au moyen du bactériophage, mais, comme on le verra plus loin, l'immunité chez les insectes peut être provoquée aussi par les injections de substances non spécifiques, telles que sérum du cheval, encre de Chine, bouillon, etc. Pour cette raison, l'injection du bactériophage sur le bouillon peut être considérée comme une immunisation non spécifique.

D'autre part, on a essayé d'immuniser les insectes *per os*. Par ce moyen, Glaser n'a pas pu obtenir l'immunité chez les vers à soie. Mais Carbone et Fortuna ont obtenu certains résultats favorables chez les mêmes insectes. Vicher n'a pas réussi à vacciner ainsi les chenilles processionnaires du pin et les essais de Chorine pour conférer *per os* l'immunité générale aux chenilles de *Pyrausta* sont restés sans succès.

Le moyen le plus simple et le plus commode d'immunisation des insectes est celui de l'injection du vaccin préparé par chauffage à 60°.

En injectant les vieilles cultures non chauffées, on risque toujours d'injecter les cultures qui ont encore conservé leur virulence. D'autre part, l'injection de quantités très minimales du

microbe virulent peut aussi provoquer une certaine mortalité chez les insectes ainsi vaccinés.

Il faut noter que nous avons pu prouver que les meilleurs résultats de l'immunisation au moyen des cultures chauffées sont obtenus à l'aide de vaccins préparés avec des cultures jeunes de 24-28 heures.

Ici, nous citons une de nos expériences faites dans ce but.

EXPÉRIENCE n° 11

Le 9 mars, un lot de 16 chenilles de *Galleria mellonella* a reçu l'injection d'une culture chauffée de bac. de Danysz âgée de 24 heures.

Un autre lot de 16 chenilles a reçu l'injection d'une culture chauffée de bac. de Danysz âgée de 3 mois.

Sept jours après l'injection du vaccin, toutes les chenilles de ces deux lots, aussi bien que 8 chenilles du contrôle ont été inoculées avec une dose mortelle double du microbe de Danysz.

Vingt-quatre heures plus tard :

1° Toutes les chenilles du contrôle sont mortes.

2° Parmi les 8 chenilles immunisées à l'aide du vaccin préparé avec la culture âgée, 2 chenilles sont mortes ; cinq jours plus tard encore 3 sont mortes et 3 restent vivantes.

3° Toutes les chenilles immunisées à l'aide du vaccin préparé avec la culture jeune restèrent vivantes.

QUANTITÉ ET CONCENTRATION DU VACCIN. — La dose du vaccin injecté joue un rôle important dans la vaccination des insectes. Chigasaki, dans ses expériences avec l'immunisation de *Galleria mellonella* envers le microbe de Danysz, a trouvé une certaine concentration optimale du vaccin.

Chorine a également noté qu'il existe une quantité de vaccin qui assure l'immunisation mieux que les quantités plus grandes et plus petites.

Nous avons étudié cette question sur les chenilles de *Galleria mellonella* et sur les *Carausius morosus*. Nous avons trouvé que, chez les chenilles, l'immunité est tellement marquée les trois premiers jours après l'injection du vaccin, qu'on ne peut presque pas déceler l'influence de la concentration du vaccin sur l'immunité pendant cette période. Toutefois, les doses trop fortes du vaccin peuvent provoquer l'intoxication de l'insecte ; mais au-

dessous de cette quantité nocive, elles peuvent varier dans de très larges limites.

Pour apprécier le degré de l'immunité chez les insectes, il faut l'étudier plusieurs jours après la vaccination. De même, dans ce but il faut les inoculer avec des doses très massives de microbe. Ainsi nous avons injecté des quantités 2, 3, 4 et encore plus fortes que les doses minima mortelles. Seulement les insectes qui ont acquis une immunité solide résistent à l'infection faite de cette manière. Et, pour provoquer l'immunité solide et durable, il faut choisir la concentration optimale du vaccin.

Dans ces recherches, nous avons pris différents microbes : très virulents, aussi bien que d'une virulence moyenne pour les insectes. Dans nos expériences avec ces derniers, nous avons trouvé, chez les chenilles de *Galleria mellonella*, que la concentration optimale du vaccin correspond à peu près à la concentration du même microbe dans la dose mortelle de culture non chauffée.

EXPÉRIENCE n° 12

Un lot de 8 chenilles de *Galleria mellonella* ont reçu l'injection de 1/100 de cmc. du vaccin de Danysz, concentration : 3 anses pour 1 cmc. d'eau physiologique.

Un autre lot de 8 chenilles ont reçu l'injection de 1/100 de cmc. du vaccin de Danysz, concentration : 1 anse pour 1.000 cmc.

Sept jours après la vaccination, toutes ces chenilles ainsi que les 8 chenilles du contrôle ont été inoculées avec une dose mortelle double du microbe de Danysz (1/100 de cmc., concentration : 6 anses pour 1 cmc.).

Vingt-quatre heures après, toutes les chenilles du contrôle sont mortes. Parmi les 8 chenilles, vaccinées avec la dose faible du vaccin, seulement 2 sont restées vivantes, tandis que toutes les chenilles qui ont reçu la dose forte du vaccin, ont résisté à la maladie.

Les vaccins 10-20 fois plus concentrés donnent des résultats nettement inférieurs. Avec les concentrations encore plus élevées, on arrive parfois à rendre malade et même à tuer un certain nombre de chenilles.

Il faut noter qu'il est extrêmement difficile d'immuniser les chenilles envers quelques microbes très virulents pour ces insectes. Ainsi, nous avons essayé de les vacciner contre le bac. rouge de Métalnikov, le *Coccobacillus Ellengeri* et le Vibriion cholérique B.

Les résultats ne sont pas aussi nets que dans l'immunisation vis-à-vis des cultures moins virulentes. Néanmoins, dans nos expériences avec le *Cholera B* dont la dose mortelle est 1/100 de cmc. d'une dilution d'une anse dans 100.000 cmc., nous avons pu obtenir des résultats assez satisfaisants avec des concentrations très fortes du vaccin. Ainsi, la dose du vaccin d'une anse pour 100.000 cmc. ne donne aucune immunité, de même que les concentrations 10, 100, 1000 et 10.000 fois plus fortes. Pour immuniser les chenilles envers les doses mortelles et mêmes des doses 10 et 20 fois plus fortes, il faut les vacciner avec les concentrations de 1 goutte pour 1 cmc., ce qui correspond à la quantité de microbes chauffés 6-10 millions plus grande que la dose de microbes vivants qui peuvent tuer une chenille en 24 heures.

En étudiant l'immunisation des *Carausius morosus*, nous avons pu constater qu'après la vaccination, plusieurs fois répétée, l'immunité est beaucoup plus prononcée qu'après une vaccination unique.

D'autre part, les doses trop fortes du vaccin peuvent provoquer la mort de l'insecte. Ainsi, nous injectons d'habitude successivement des concentrations du vaccin de plus en plus élevées.

Ici, nous exposons une de nos expériences, qui prouve l'influence qu'ont sur l'immunité des vaccinations répétées.

EXPÉRIENCE n° 13

1° Du 11 jusqu'au 21 mars, 7 *Carausius morosus* ont reçu 4 injections de vaccin du Choléra.

2° Le 30 mars, 5 *Carausius* ont reçu une injection unique de vaccin de Choléra.

Deux mois après, le 26 mai, tous ces *Carausius* aussi bien que 5 *Carausius* témoins (non vaccinés) ont été inoculés avec une dose mortelle du Choléra.

Trois jours après tous les *Carausius* témoins sont morts. Parmi les 7 *Carausius* vaccinés 4 fois, 5 sont vivants, et parmi les *Carausius* vaccinés 1 fois, 2 seulement sont vivants. Deux jours plus tard encore 1 de ces insectes est mort et 1 reste vivant.

RAPIDITÉ DE L'IMMUNISATION. — Les chenilles sont déjà complètement immunisées 24 heures après l'injection du vaccin.

Métalnikov et Gaschen ont spécialement étudié la question de

la rapidité de l'immunisation chez les chenilles de *Galleria mellonella*.

D'après ces auteurs, les chenilles peuvent être immunisées avec une rapidité surprenante. Trois heures après la vaccination avec le *Cholera* Sal. qui est peu virulent pour les chenilles, elles deviennent complètement immunisées vis-à-vis des doses sûrement mortelles de la même culture.

L'immunité apparaît plus vite, lorsque les doses du vaccin sont petites. Pour immuniser les chenilles vis-à-vis des cultures très virulentes, il faut un délai de temps plus grand. Ainsi, 7 heures après la vaccination, les chenilles ne sont pas encore complètement immunisées contre le *Cholera* Pot. qui est très virulent pour ces insectes.

D'autre part, la rapidité de l'immunisation chez les insectes dépend de l'espèce. Nous avons étudié la rapidité de l'immunisation chez les *Carausius morosus* et nous avons pu constater que chez eux l'immunité apparaît seulement 48 heures après la vaccination.

EXPÉRIENCE n° 14

Pendant cinq jours consécutifs, du 18 jusqu'au 22 mai, on a vacciné chaque jour un nouveau lot de 6 à 12 *Carausius morosus* avec la même quantité de vaccin de Choléra.

Après la vaccination, une partie des *Carausius* vaccinés les deux derniers jours ont été mis séparément à l'étuve à 30° et les autres insectes ont été laissés à la température du laboratoire (15-20°).

Le 23 mai, c'est-à-dire le lendemain de la dernière vaccination, tous ces insectes aussi bien que 5 *Carausius* témoins non vaccinés ont été inoculés avec une dose mortelle de *Vibrien* cholérique.

Ici sont représentés les résultats obtenus après l'inoculation.

Nombre de <i>Carausius</i> en expérience	Date de la vaccination	Nombre de <i>Carausius</i> vivants après l'inoculation	
		24 heures après	4 jours après
5	Témoins	1	0
7	18-V laissés à la t° du labor.	7	6
6	19-V —	6	6
6	20-V —	6	5
7	21-V —	3	3
5	22-V —	1	1
4	21-V laissés à la t° de 30°	4	3
4	22-V —	4	2

D'après les résultats de cette expérience, on voit que le temps nécessaire pour immuniser les *Carausius* varie de 48 à 72 heures. D'autre part, la température influe notablement sur la rapidité de l'immunisation ; on voit que les *Carausius* mis après la vaccination à l'étuve à 30° ont acquis l'immunité dans un délai de temps beaucoup plus court que les insectes gardés à la température du laboratoire.

DURÉE DE L'IMMUNITÉ. — D'après les expériences de Métalnikov et Gaschen, les chenilles de *Galleria mellonella*, une fois vaccinées avec la culture chauffée du vibron cholérique, restent immunisées pendant toute leur vie et transmettent l'immunité aux chrysalides et aux papillons.

Chigasaki a fait des constatations analogues en étudiant l'immunité envers le microbe de Danysz chez les mêmes chenilles.

D'autre part, Chorine a obtenu des résultats tout à fait contraires avec l'immunisation des chenilles de *Galleria* vis-à-vis du *Coccobacillus* de d'Hérelle. L'immunité contre ce microbe est très forte 24-36 heures après la vaccination ; 48 heures après, elle devient déjà plus faible pour disparaître complètement au bout de 3 ou 4 jours.

Chorine, lui aussi a pu constater que l'immunité acquise envers d'autre microbes dure plusieurs jours et que les chenilles de *Galleria* restent immunisées au moins pendant 10 à 20 jours.

Il faut donc conclure que la durée de l'immunité acquise dépend du microbe, de la dose et du mode de vaccination. Néanmoins, il est certain que le maximum de l'immunité chez les chenilles de *Galleria* est 24 heures après la vaccination. Ensuite elle décroît plus ou moins lentement. Du reste, la chenille se transforme assez vite en chrysalide et puis en papillon qui sont beaucoup plus sensibles à l'infection. De même, leur vie est très courte et toute la durée du développement de la mite d'abeille ne dépasse pas quelques semaines. C'est pour cette raison qu'il est beaucoup plus commode d'étudier la durée de l'immunité acquise chez les *Carausius* qui peuvent vivre plus d'un an.

Nous avons déjà noté que l'immunité apparaît chez ces insectes plus tardivement que chez les chenilles. D'autre part, il semble qu'elle décroît aussi plus lentement.

Plusieurs causes peuvent influencer sa conservation. En tout

cas, elle dépend essentiellement de la nature et du nombre des vaccinations. Ainsi, en injectant plusieurs fois le vaccin spécifique et en inoculant une dose strictement minima mortelle, nous avons pu constater à plusieurs reprises que l'immunité, chez *C. morosus*, contre le Vibrion cholérique, peut durer plusieurs mois.

Dans le tableau ci-dessous, nous exposons les résultats d'une expérience où ces insectes ont supporté l'inoculation d'une dose mortelle de Vibrion cholérique 4 mois après la dernière vaccination.

EXPÉRIENCE n° 15

Du 12 au 21 janvier, 15 *Carausius* ont reçu 3 injections d'émulsion chauffée de Vibrion cholérique.

Le 21 mai, c'est-à-dire quatre mois après la dernière vaccination, 7 de ces *Carausius* ainsi que les 5 *Carausius* de contrôle ont été inoculés avec une dose mortelle du Vibrion cholérique. Quarante-huit heures plus tard, tous les *Carausius* du contrôle sont morts.

Parmi les *Carausius* immunisés, 1 seulement est mort. Dix jours plus tard encore 1 est mort, et 5 restent vivants.

SPÉCIFICITÉ DE L'IMMUNITÉ. — Nous avons démontré que l'immunité naturelle chez les insectes a les caractères d'une certaine spécificité. Ainsi, les chenilles résistent très bien aux injections de très grandes doses du choléra de la souche M. et succombent après les inoculations de quantités infimes de choléra d'une autre souche B. De même, l'immunité de chaque espèce d'insectes est aussi spécifique. Ainsi, les chenilles de *Galleria mellonella* sont très sensibles envers le bacille de Coli ; par contre, les *Carausius morosus* possèdent une immunité complète vis-à-vis du même microbe.

En est-il de même pour l'immunité acquise ? D'après les premiers travaux sur l'immunisation des insectes, il semblait que l'immunité acquise était aussi spécifique.

La même opinion est soutenue jusqu'à présent par Paillot.

D'autre part, dans toute une série de travaux, Métalnikov et ses élèves ont pu prouver l'existence de l'immunité non spécifique. Ainsi, Métalnikov et Ischimori ont pu immuniser les chenilles de *Galleria* contre le vibrion cholérique M. avec les vaccins de bac. de Coli, du charbon, de la dysenterie, d'un

microcoque de *Galleria*, aussi bien qu'avec des filtrats des cultures et avec l'encre de Chine.

Chorine a obtenu des résultats analogues en immunisant les chenilles avec des vaccins non spécifiques contre le *Bac. subtilis*, le *Coccobacillus acridiorum* de d'Hérelle, le vibrion cholérique et le microbe de Danysz. Suivant ses expériences, l'immunité non spécifique se maintient plusieurs jours, elle est assez prononcée 24-72 heures après la vaccination, mais après un délai de 12 et 21 jours, elle devient beaucoup plus faible et toutes les chenilles ne peuvent résister à l'inoculation de la dose minima mortelle d'un microbe.

Dans nos expériences sur l'immunisation non spécifique, 24-48 heures après une injection du vaccin de bac. de Danysz, du vaccin de choléra ou bien du bouillon ou du sérum de cheval, nous avons pu obtenir une immunité complète envers les microbes suivants : vibrion de choléra (peu virulent), vibrion de Metchnikoff, bac. de Danysz, bac. paratyphiques A et B, colibacille, staphylocoque blanc et doré, bacille de *Galleria* N1, bacille de *Pyrausta* N4.

Mais l'immunité chez les chenilles de *Galleria mellonella* peut être provoquée non seulement au moyen d'injection du vaccin non spécifique ou d'une substance albuminoïde. Une simple injection d'eau physiologique, d'eau de robinet ou même d'une substance toxique comme le sulfate de strychnine provoque, 24 heures après, une immunité assez prononcée.

EXPÉRIENCE n° 16

Le 24 février :

- 1° 6 chenilles ont reçu 1/100 cmc. d'eau distillée stérile.
- 2° 6 chenilles ont reçu 1/100 cmc. d'eau physiologique stérile.
- 3° 6 chenilles ont reçu 1/100 cmc. d'eau de robinet.
- 4° 6 chenilles ont reçu 1/100 cmc. de solution de sulfate de strychnine à 1 0/0.

Le lendemain, toutes ces chenilles aussi bien que les 6 chenilles témoins ont été inoculées avec une dose minima mortelle du microbe de Danysz. Quarante-huit heures plus tard toutes les chenilles témoins sont mortes. Parmi les chenilles injectées avec l'eau distillée 1 est restée vivante et 5 sont mortes.

Parmi les chenilles injectées avec l'eau physiologique 4 sont vivantes et 2 sont mortes. Toutes les chenilles injectées avec l'eau du robinet et le sulfate de strychnine sont restées vivantes.

Nous avons pu remarquer que l'immunité provoquée par l'injection d'eau et d'eau salée disparaît complètement après 48 heures de même que l'immunité non spécifique décroît aussi plus rapidement que celle provoquée par la vaccination spécifique.

EXPÉRIENCE n° 17

Le 3 mars, 8 chenilles ont reçu 1/100 cmc. du bouillon, 8 autres chenilles ont reçu 1/100 cmc. du vaccin de Danysz.

Trois jours plus tard, toutes ces chenilles aussi bien que 8 chenilles du contrôle ont été inoculées avec une dose mortelle double du microbe de Danysz.

Vingt-quatre heures plus tard, toutes les chenilles de contrôle sont mortes.

Toutes les chenilles vaccinées sont restées vivantes.

Parmi les chenilles injectées avec du bouillon 2 — sont mortes et 6 — vivantes ; deux jours plus tard encore 3 de ces chenilles sont mortes et 3 sont restées vivantes.

EXPÉRIENCE n° 18

Le 9 mars, 8 chenilles ont reçu 1/100 cmc. du vaccin de Danysz et 8 autres chenilles ont reçu 1/100 cmc. du vaccin de Staphylocoque.

Sept jours plus tard, toutes les chenilles ainsi que 8 chenilles du contrôle ont été inoculées avec une dose mortelle double du microbe de Danysz.

Vingt-quatre heures plus tard, toutes les chenilles du contrôle sont mortes. Toutes les chenilles immunisées avec le vaccin spécifique restèrent vivantes. Parmi les 8 chenilles immunisées avec le vaccin Staphylococcique, 3 sont mortes, deux jours après encore 1 chenille est morte et 4 restèrent vivantes.

De ces expériences, il ressort que l'immunité non spécifique chez les chenilles de *Galleria mellonella* est moins solide et de plus courte durée que l'immunité spécifique. Mais puisque ces insectes ne vivent que quelques semaines, nous avons cru intéressant d'étudier comparativement la durée de l'immunité spécifique et celle de l'immunité non spécifique chez les *Carausius morosus*, dont la vie est beaucoup plus longue.

Tout d'abord, nous avons pu déterminer que ces insectes peuvent être immunisés avec des vaccins non spécifiques.

EXPÉRIENCE n° 19

On a pris 4 lots de *Carausius morosus*.

Le 1^{er} lot, de 10 *Carausius*, a été injecté avec une vieille culture atténuée de Staphylocoque ; le 2^e lot, de 9 *Carausius*, a été injecté avec une vieille culture de bac. de Danysz ; le 3^e lot, de 9 *Carausius* a été injecté avec une vieille culture de *B. proteus vulgaris* ; le 4^e lot, de 10 *Carausius*, nous a servi de contrôle.

Deux jours après la première injection, tous ces insectes ont été inoculés avec une dose mortelle de Vibrion cholérique, quarante-huit heures plus tard, tous les *Carausius* de contrôle étaient morts, tandis que parmi les 10 *Carausius* immunisés avec le Staphylocoque, 2 sont morts, 8 vivants ; parmi les 9 *Carausius* immunisés avec le microbe de Danysz, 3 — sont morts et 6 vivants ; parmi les 9 immunisés avec le bac. proteus, 1 — est mort et 8 vivants.

Quatre jours plus tard, nous avons trouvé dans le 1^{er} lot, 6 vivants, dans le 2^e lot, 5, et dans le 3^e lot, 5 *Carausius* vivants.

Ici, nous citons une des expériences entreprises dans le but de déterminer la durée de l'immunité non spécifique.

EXPÉRIENCE n° 20

On a pris 2 lots de *Carausius morosus*. Parmi les insectes de chaque lot, les uns ont été injectés à deux reprises avec des émulsions chauffées de Vibrion cholérique, d'autres, avec des émulsions de Staphylocoque et le reste avec du bouillon ordinaire. Ces injections ont été faites à des dates différentes.

Après un certain temps, tous ces *Carausius* ont été inoculés avec une dose mortelle de Vibrion cholérique. Le 1^{er} lot a été inoculé trente-cinq jours après la dernière vaccination, le 2^e lot après dix-neuf jours.

On a inoculé en même temps un lot de *Carausius morosus* témoin.

Ici nous exposons les résultats de cette expérience :

Nombre de <i>Carausius</i> en expérience	Date et nature d'injection	Nombre de <i>Carausius</i> vivants		
		17 déc.	19 déc.	21 déc.
7	10 et 12 novembre. Emulsion chauffée de Vibron cholérique	Dose mortelle de vibron cholérique	6	6
9	10 et 12 novembre. Emulsion chauffée de Staphylocoque		1	1
3	10 et 12 novembre. Bouillon.....		0	—
9	26 et 28 novembre. Emulsion chauffée de Vibron cholérique		9	8
10	26 et 28 novembre. Emulsion chauffée de Staphylocoque		4	4
9	26 et 28 novembre. Bouillon.....		6	5
7	Témoins (non injectés)		0	—

Ainsi, on peut constater que chez les *Carausius*, 35 jours après l'injection du bouillon et du vaccin staphylococcique, l'immunité non spécifique contre le choléra est disparue. D'autre part, l'immunité spécifique élaborée après les injections du vaccin cholérique est assez bien conservée après ce même temps. Par contre, on voit qu'après 19 jours l'immunité non spécifique existe, mais en proportions beaucoup plus faibles que l'immunité spécifique.

D'après ces résultats, on voit que l'immunité non spécifique chez les *Carausius morosus*, bien qu'existant plusieurs jours, est beaucoup moins durable que l'immunité spécifique. De même, la vaccination spécifique donne une immunité plus stable et plus constante.

II. — Immunité passive.

Nous avons vu qu'on peut créer l'immunité active chez les insectes.

De même, nous avons établi qu'il est possible de les immuniser passivement. Dans nos premières expériences, faites en 1927, nous avons pu constater que l'injection du sang des chenilles de *Galleria mellonella*, préalablement vaccinées contre le microbe de Danysz, confère aux chenilles neuves l'immunité contre le même microbe.

Nos expériences ont été confirmées par Aghar et par Chorine.

Aghar a pu réaliser l'immunité passive envers le *Bacillus pieris* liq. P. chez les chenilles de *Lithosia complana*. Et Chorine a obtenu l'immunité passive envers la toxine diphtérique chez les chenilles de *Galleria mellonella*.

Depuis nos premières recherches sur cette question, nous avons pu démontrer l'immunité passive chez les chenilles envers plusieurs microbes : le B. Danysz, le B. paratyphique, le *B. subtilis* var. *Galleria*, le *Coccobacillus acridiorum* de d'Hérelle et le *Vibron* Leonardi.

En voici quelques exemples :

EXPÉRIENCE n° 21

Dix chenilles reçoivent 1/80 de cmc. d'une culture de bac. de Danysz chauffée.

Le lendemain, le sang de ces chenilles est injecté aux 10 chenilles neuves et vingt-quatre heures après elles sont inoculées avec une dose mortelle de bac. de Danysz. En même temps, 10 chenilles témoins et 10 témoins qui ont reçu préalablement le sang normal sont inoculés avec une même dose de bac. de Danysz.

Vingt-quatre heures après l'inoculation, toutes les chenilles témoins sont mortes, tandis que les chenilles immunisées passivement restaient vivantes et se développaient en chrysalides et papillons.

EXPÉRIENCE n° 22

Huit chenilles reçoivent 1/80 de cmc. d'une culture chauffée de *B. subtilis* var. *Galleria*. Le lendemain, le sang de ces chenilles est injecté aux 8 chenilles neuves. Vingt-quatre heures après, elles sont inoculées avec une dose mortelle de *B. subtilis* var. *Galleria*. En même temps, 8 chenilles de contrôle reçoivent une dose pareille du même microbe.

Quarante-huit heures après l'inoculation, toutes les chenilles témoins étaient mortes et parmi les 8 chenilles immunisées passivement, 2 sont mortes et 6 sont restées vivantes.

DURÉE DE L'IMMUNITÉ PASSIVE. — Le temps qui s'écoule entre la vaccination des chenilles et l'injection de leur sang ne joue pas un rôle essentiel dans l'acquisition de l'immunité. On peut prélever le sang, non seulement le lendemain de la vaccination, mais aussi après plusieurs jours (5, 8, 12 jours). Le sang

stérile des chenilles vaccinées peut être conservé pendant plusieurs jours dans de petits tubes scellés, sans perdre sa propriété immunisante.

Nous avons pu constater que l'immunité passive se maintient plusieurs jours.

EXPÉRIENCE n° 23

Dix chenilles, cinq jours après l'injection du sang de chenilles préalablement vaccinées avec la culture de bac. de Danysz chauffée, recevaient, ainsi que les 10 chenilles du contrôle, la dose mortelle du même microbe.

Vingt-quatre heures après, toutes les chenilles témoins étaient mortes. Des 10 chenilles immunisées, 9 étaient vivantes.

Quarante-huit heures après, 8 étaient vivantes.

SPECIFICITÉ. — Nous avons vu que, les premiers jours après la vaccination, l'immunité active chez les insectes n'est pas spécifique. De même, nous avons pu constater l'existence de l'immunité passive non spécifique.

EXPÉRIENCE n° 24

Six chenilles reçoivent une injection du sang des chenilles vaccinées avec culture chauffée de *B. subtilis* var. *Galleria*. Les autres 6 chenilles reçoivent une injection du sang des chenilles vaccinées avec culture chauffée de *Coccobacillus acridiorum* de d'Hérelle.

Le lendemain, toutes ces chenilles, ainsi que les 6 chenilles du contrôle, sont inoculées avec une dose mortelle de bac. de Danysz.

Le surlendemain, toutes les chenilles du contrôle étaient mortes, tandis que de chaque lot de 6 chenilles passivement immunisées, 1 seulement était morte et 5 étaient vivantes.

Encore vingt-quatre heures plus tard, parmi les chenilles du 2° lot (qui ont reçu le sang de chenilles immunisées avec le vaccin de *Coccobacillus acridiorum*) 2 sont mortes et 3 restèrent vivantes.

Mais si l'on peut considérer l'immunité passive comme non spécifique, son intensité dépend cependant du vaccin qui a été injecté aux chenilles auxquelles on a prélevé du sang. Ce fait est représenté dans le tableau, où nous donnons les résultats d'expériences faites sur 1.200 chenilles.

Substance préalablement injectée	Pourcentage de chenilles vivantes après l'inoculation de la dose mortelle		
	Bac. de Danysz	B. subtilis galleriae	C. acridiorum
Sang de chenilles injectées avec l'émulsion chauffée de Bacille de Danysz	90	62	60
Sang de chenilles injectées avec l'émulsion chauffée de <i>B. subtilis</i> var. <i>Galleriae</i>	80	80	10
Sang de chenilles injectées avec l'émulsion chauffée de <i>C. acridiorum</i>	70	20	44
Sang de chenilles injectées avec du bouillon....	35	25	5
Sang de chenilles normales	24	15	0
Témoins (non injectées)	0	0	0

D'après ces résultats, on voit que l'injection de sang de chenilles normales, ou préparées avec du bouillon, permet une survie beaucoup plus faible que celle du sang de chenilles vaccinées. On peut établir comme règle que c'est l'injection du sang de chenilles ayant reçu l'injection d'une dose de l'émulsion chauffée du même microbe, qui provoque l'immunité passive la plus intense. Le coccobacille de d'Hérelle fait seule exception ; pour lui, nous avons obtenu les meilleurs résultats avec le sang des chenilles qui avaient reçu la culture chauffée de bacille de Danysz.

RÔLE DES LEUCOCYTES. — De nombreuses observations sur les réactions d'immunité chez les invertébrés ont permis de supposer que, dans l'immunité chez les insectes, les leucocytes jouent un rôle très important. Nous avons cru intéressant d'étudier si la propriété immunisatrice n'appartient qu'aux leucocytes des chenilles immunisées ou si cette propriété est due aussi au plasma du sang. Dans ce but, nous avons fait l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE n° 25

Le sang des chenilles préalablement immunisées avec la culture de bac. de Danysz chauffée a été centrifugé pour séparer les leucocytes de plasma. Le sédiment des leucocytes a été émulsionné séparément dans l'eau physiologique et injecté aux 10 chenilles, 10 autres chenilles ont été injectées avec le plasma séparé.

Vingt-quatre heures après, toutes ces chenilles, ainsi que les

chenilles témoins, ont reçu une dose mortelle du microbe de Danysz.

Le lendemain, parmi les chenilles qui avaient reçu les leucocytes, 1 était morte.

Les chenilles qui avaient reçu le plasma étaient toutes vivantes. Toutes les chenilles témoins étaient mortes.

Il faut noter que les leucocytes des chenilles sont très fragiles et, en centrifugeant le sang, un certain nombre des leucocytes est toujours détruit. Le résultat de cette expérience nous montre que la propriété immunisatrice appartient aussi bien aux leucocytes qu'au plasma des chenilles vaccinées.

THERMOSTABILITÉ. — On sait que chez les mammifères l'alexine est détruite par le chauffage du sang à 56°, tandis que la sensibilisatrice n'est détruite qu'à la température de 60° environ. Le sérum, chauffé au-dessus de 60°, devient donc inactif et ne provoque pas d'immunité.

Nous avons pu constater que la température de 60° ne détruit pas les propriétés immunisantes du sang des insectes vaccinés.

EXPÉRIENCE n° 26

Nous avons chauffé à 60° pendant une demi-heure, le sang prélevé chez les chenilles immunisées contre le bac. de Danysz, puis nous l'avons injecté aux 13 chenilles normales.

Vingt-quatre heures après, les chenilles injectées, ainsi que les 13 chenilles du contrôle, recevaient une dose mortelle du même microbe.

Deux jours après, toutes les chenilles témoins étaient mortes

Parmi les 13 chenilles injectées avec le sang chauffé, 3 seulement sont mortes.

Dans d'autres expériences, nous avons chauffé le sang à 70°, 75°, 80°, et même à 100°. Les résultats obtenus nous montrent que la propriété immunisante du sang chauffé au-dessus de 60° diminue progressivement avec l'augmentation de la température ; mais il n'existe pas une limite nette au-dessus de laquelle le sang chauffé perd toutes ses propriétés immunisantes.

Le sang chauffé au-dessus de 75° est complètement coagulé, ce qui rend l'injection très difficile. Alors, nous avons essayé de

diluer préalablement le sang avec de l'eau physiologique. Ainsi, nous avons pu arriver à injecter le sang dilué et chauffé même à 100°.

SÉROTHÉRAPIE. — On sait que chez les mammifères l'immunité passive s'établit presque aussitôt après l'injection du sérum, et que le sérum, injecté même après le commencement de la maladie, a un effet curatif.

Nous avons pu faire des constatations analogues dans nos études sur l'immunité passive chez les chenilles.

Ainsi, nous avons trouvé qu'une injection du sang de chenilles vaccinées peut avoir un effet curatif, même si elle est effectuée quelques heures après l'introduction du microbe.

EXPÉRIENCE n° 27

Nous avons inoculé un lot de chenilles avec une dose mortelle du microbe de Danysz. Pendant une heure et demie, les chenilles sont restées à la température du laboratoire.

Après ce temps :

1° 10 de ces chenilles ont reçu une injection du sang de chenilles préalablement vaccinées.

2° 10 chenilles recevaient à leur tour une injection de vaccin du même microbe (culture de bacille de Danysz, chauffée à 60° pendant trente minutes).

3° 10 chenilles recevaient une injection de sang de chenilles non immunisées.

4° 10 chenilles qui devaient nous servir comme témoins ne recevaient rien.

Le lendemain, les chenilles qui avaient reçu une injection de sang de chenilles vaccinées étaient vivantes, tandis que toutes les autres étaient mortes.

Au bout de sept jours, parmi les 10 chenilles qui avaient survécu, 2 étaient mortes ; les autres se développaient normalement, et elles se sont transformées en papillons.

EXPÉRIENCE n° 28

Nous avons inoculé un lot de 16 chenilles avec une dose minima mortelle du microbe de Danysz.

Quatre heures et demie après, 8 de ces chenilles ont reçu une

injection du sang des chenilles vaccinées cinq jours avant. Les autres 8 chenilles restaient comme témoins.

Vingt-quatre heures après, parmi les chenilles injectées avec du sang immunisé, 7 étaient vivantes.

Trois jours après, 5 étaient vivantes.

Sept jours après, 3 étaient vivantes.

Parmi les témoins :

Vingt-quatre heures après, 3 étaient vivantes.

Trois jours après, 2 étaient vivantes.

Sept jours après, toutes étaient mortes.

Nous avons obtenu des résultats analogues avec la culture de bac. paratyphique B.

Le sang des chenilles immunisées peut être conservé pendant plusieurs jours dans des tubes scellés, sans perdre ses propriétés curatives.

Chorine a pu constater des résultats analogues avec la sérothérapie antidiphthérique chez les mêmes chenilles. L'injection du sang des chenilles, ayant reçu préalablement l'anatoxine antidiphthérique, a un effet curatif sur les chenilles inoculées avec la toxine diphthérique.

MÉCANISME ET FACTEURS DE L'IMMUNITÉ

Depuis les travaux de Balbiani et de Metchnikoff, on a beaucoup étudié le mécanisme de l'immunité cellulaire chez les insectes.

Les travaux de Métalnikov, Fiessinger, Hollande, Aghar, Tateiva et autres ont démontré l'importance des réactions cellulaires dans l'immunité chez les chenilles.

Dans ce chapitre, nous étudierons d'abord cette question.

Ensuite, nous exposerons les recherches sur le rôle des anticorps dans l'immunité chez les insectes.

Enfin, il faut noter le rôle que le système nerveux et l'hérédité peuvent jouer dans l'immunité.

Immunité cellulaire.

Metchnikoff a fait ses premières observations de la phagocytose sur les invertébrés. De même, les insectes sont un matériel de choix pour l'étude d'immunité cellulaire. On a fait de nombreuses recherches sur la phagocytose chez les insectes.

Métalnikov a beaucoup étudié la phagocytose chez les chenilles de *Galleria mellonella*. Suivant cet auteur, elle commence de 15 à 20 minutes après l'injection d'une substance. Mais son intensité et sa rapidité dépendent de la substance injectée, ainsi que de la température ambiante. Comme règle générale, elle est très intense en cas d'infection avec un microbe peu virulent et elle l'est beaucoup moins lorsque le microbe est très pathogène. Ainsi, d'après Métalnikov, la *phagocytose* est un des facteurs les plus importants dans la défense des insectes contre l'in-

fection. Les leucocytes et les cellules fixes prennent une part active dans la destruction des microbes. Lorsqu'ils ne peuvent pas digérer les microbes englobés, on observe la formation de *cellules géantes* qui sont une sorte de coopération pour renforcer le travail de cellules isolées.

On peut observer la formation de ces *cellules géantes* après l'injection des bacilles tuberculeux. Ensuite, elles sont isolées par des sortes de *capsule* qui les entourent et les mettent à l'abri des cellules et des organes non infectés.

D'autre part, l'élimination des microbes peut se produire par formation d'*abcès* (dans l'infection avec le *B. perfringens*, le *B. thirotrix*, etc.).

VARIATION DE LA FORMULE LEUCOCYTAIRE. — D'après les nombreuses observations de Métalnikov, Hollande, Aghar, Tateiva et autres, on sait qu'une injection d'une substance étrangère provoque chez les insectes une brusque réaction de toutes les cellules du sang. Cette réaction est spécifique selon la substance injectée. Ainsi, l'injection d'un microbe particulier donne une variation de la formule leucocytaire caractéristique.

Nous avons entrepris une série d'expériences pour étudier la réaction leucocytaire dans l'immunité passive chez les chenilles de *Galleria mellonella*. Comme nous l'avons déjà mentionné, dans la formule leucocytaire normale du sang de ces chenilles on trouve :

Proleucocytes et lymphocytes.....	45,4 %
Leucocytes	50,4 %
Cellules sphéruleuses	4,2 %

Nous avons examiné la modification de la formule leucocytaire après l'immunisation active, passive et l'injection du sang normale.

EXPÉRIENCE n° 29

Nous avons pris 3 lots de 10 chenilles.

1° Les 10 premières ont reçu une injection d'émulsion chauffée de bac. de Danysz (immunisation active).

2° 10 autres ont reçu une injection du sang des chenilles préalablement vaccinées avec culture chauffée de bac. de Danysz (immunisation passive).

3° 10 autres ont reçu l'injection du sang des chenilles normales.

Après avoir été injectées, les chenilles ont été mises à l'étuve à 32°. On a examiné le sang toutes les dix minutes, puis toutes les heures et ensuite tous les jours.

Les résultats de ces examens ont montré que l'immunisation active avec la culture chauffée de bac. de Danysz provoque une brusque augmentation du nombre des leucocytes et une diminution des proleucocytes (30 min. après l'injection le nombre de leucocytes atteint 82 % et le nombre de proleucocytes est réduit à 15 %).

Mais, 24 heures et surtout 48 heures après l'injection, le nombre de proleucocytes augmente considérablement et il représente presque 80 % des cellules sanguines. En même temps, on observe l'apparition des cellules sphéruleuses (jusqu'à 15 %).

Dans l'immunisation passive, le nombre des proleucocytes augmente très rapidement et atteint 72 %, déjà une heure après l'injection du sang ; après ce temps, la variation de la formule sanguine est très faible.

L'injection du sang normale ne fait presque pas varier la formule leucocytaire. On peut observer seulement une augmentation progressive du nombre des proleucocytes (24 heures après l'injection : proleucocytes, 58 % ; leucocytes, 39 %).

Dans l'expérience suivante, nous avons étudié la modification de la formule leucocytaire après l'inoculation de la dose mortelle du bac. de Danysz chez les chenilles immunisées activement, passivement et chez les chenilles normales.

EXPÉRIENCE n° 30

Nous avons pris :

1° 10 chenilles préalablement vaccinées (avec culture chauffée de Danysz).

2° 10 chenilles qui ont reçu préalablement le sang de chenilles immunisées (au moyen de culture chauffée de Danysz).

3° 10 chenilles normales.

Nous avons inoculé toutes ces chenilles avec une dose mortelle de bac. de Danysz.

Les résultats de cette expérience ont montré la différence entre la réaction cellulaire après l'inoculation du microbe virulent

chez les chenilles immunisées et chez les chenilles normales.

Chez les chenilles immunisées activement, on voit aussitôt après l'inoculation du microbe une brusque augmentation du nombre des cellules sphéruleuses (30 min. après 43 %), mais 24 heures après, leur quantité revient à la normale. Par contre, le pourcentage des proleucocytes augmente progressivement et atteint, 24 heures après l'inoculation, 86 %.

Chez les chenilles immunisées passivement, on observe aussitôt après l'inoculation du microbe une augmentation du nombre des cellules sphéruleuses (20 min. après 25 %). Le nombre des proleucocytes reste toujours très élevé et atteint son maximum de 91 % 24 heures après l'inoculation.

La variation de la formule leucocytaire chez les chenilles non immunisées est caractérisée par une diminution du nombre des proleucocytes ; le nombre des leucocytes est quelque peu augmenté au début (10 min. après 62 %), mais 24 heures après l'inoculation, quand les chenilles sont mourantes, on observe une augmentation du nombre des cellules sphéruleuses.

Il est évident que ces cellules jouent un rôle important dans les réactions d'immunité chez les chenilles. Nous avons vu que leur pourcentage monte brusquement aussitôt après l'inoculation chez les chenilles immunisées. Leur structure cytologique nous fait penser qu'elles représentent une sorte de glande mobile et que leur activité augmente dans la défense contre les microbes.

Les anticorps dans l'immunité.

Nous avons vu l'importance des réactions cellulaires dans l'immunité. D'autre part, il existe dans le sang des insectes immunisés certains principes qu'on peut comparer aux anticorps des mammifères. Ces anticorps, chez les insectes, sont bien différents de ceux des animaux à sang chaud. C'est peut-être pour cette raison que jusqu'à très récemment on considérait que l'organisme des insectes est inapte à former des anticorps et on acceptait la conception de Metchnikoff que l'immunité chez les êtres inférieurs est purement cellulaire.

Cette conception a été confirmée par une série de recherches sur l'existence des anticorps chez les insectes, qui ont donné des résultats négatifs.

Ainsi, Metchnikoff n'a pas pu obtenir la production de l'antitoxine tétanique chez les larves d'*Oryctes nasicornis*.

Frédéricq n'a pas réussi à obtenir des précipitines chez les vers à soie.

Hollande constata l'absence d'alexine dans le sang des chenilles.

Métalnikov également n'a pu observer ni alexine, ni substance sensibilisatrice, ni agglutinines, ni opsonines dans le sang des chenilles de *Galleria mellonella*.

L'existence de l'immunité passive chez les insectes et le fait même que cette immunité peut être produite par l'injection du sérum dépourvu des leucocytes, est une preuve que les anticorps jouent un rôle dans l'immunité chez les insectes.

C'est par la présence des anticorps dans le sang des chenilles immunisées qu'on peut expliquer l'effet curatif produit par l'injection de ce sang aux chenilles malades.

Il faut signaler que Glaser a pu constater la formation des agglutinines dans le sang des sauterelles immunisées. Hollande et Vicher ont démontré l'existence d'anticorps qui sensibilisent et rendent avirulents les microbes pathogènes pour les chenilles.

Métalnikov a étudié les bactériolysines vis-à-vis de V. cholérique et de bac. dysentérique dans le sang des chenilles de *Galleria mellonella* et Paillot a pu constater leur rôle dans la destruction de différents microbes chez plusieurs espèces de chenilles.

Nous avons étudié les bactériolysines chez les insectes et leur action sur différents microbes *in vivo* et *in vitro*.

Nous avons pu observer dans le sang des chenilles de *Galleria mellonella* immunisées les bactériolysines envers les bac. paratyphique A et B, bac. dysentérique de Shiga-Dopter, v. cholérique, bac. de Danysz, vibrion de Metchnikoff, bacille de Pyrausta n° 4.

Ici, nous citons une de nos expériences, qui montre la rapidité d'action des bactériolysines.

EXPÉRIENCE n° 31

Cinq chenilles de *Galleria mellonella* reçoivent une injection d'une culture chauffée de bac. de Danysz.

Le lendemain, toutes ces chenilles reçoivent 1/100 cmc. d'une émulsion de même microbe. En même temps, 5 chenilles témoins (non vaccinées) sont injectées avec la même émulsion et en mêmes proportions.

Toutes les dix minutes, on prend à ces chenilles une toute petite goutte de sang pour préparer les frottis et pour les examiner sous le microscope.

Dix minutes après, on peut constater chez les chenilles vaccinées le phénomène de bactériolyse : les microbes sont transformés en granules.

Peu après, la quantité de granules commence à diminuer pour disparaître complètement au bout de trente à soixante minutes.

On trouve dans le sang des chenilles témoins de nombreux microbes intacts et l'on constate une phagocytose intense, qui cependant ne peut empêcher le développement des microbes.

En vue de déceler ces anticorps *in vitro* dans le sang des chenilles, nous avons entrepris les expériences suivantes.

EXPÉRIENCE n° 32

Trente chenilles de *Galleria mellonella* ont été injectées avec la culture chauffée de bac. de Danysz.

Le lendemain, 0 cmc. 5 du sang de ces chenilles a été prélevé aseptiquement dans un petit tube stérile. Après avoir ajouté une goutte d'émulsion épaisse du même microbe, on l'a mis à l'étuve à 30°. Toutes les dix minutes, on a pris une petite goutte de sang pour préparer les frottis et pour les examiner sous le microscope.

Vingt minutes après, on observait une grande diminution du nombre des microbes ; ceux qui restaient étaient transformés en partie en granules.

Trente minutes après, les bacilles étaient rares. Les granules commençaient à disparaître.

Quarante minutes après, absence totale de microbes, très peu de granules. Le même procédé a été employé comme contrôle avec le sang des chenilles normales.

Dans ce cas, on n'a pas pu observer le phénomène de bactériolyse même après plusieurs heures. La quantité de microbes ne diminuait pas, le nombre de bacilles transformés en granules était tout à fait insignifiant et même quelquefois nul.

La bactériolyse peut être vérifiée au moyen d'ensemencements sur gélose de la culture lysée. Au bout de 24 heures, elle reste stérile, ce qui montre que les microbes sont détruits.

Dans le même but, nous avons fait des expériences sur les souris.

EXPÉRIENCE n° 33

Deux tubes ont reçu chacun 3 cmc. d'une culture de bac. de Danysz sur bouillon. Puis dans le premier tube, on a ajouté 0 cmc. 6 de sang de chenilles préalablement immunisées contre le même microbe. Dans le deuxième tube, qui devait servir de contrôle, on a ajouté la même quantité de sang de chenilles normales.

Après avoir laissé les deux tubes à l'étuve pendant cinq heures, on a injecté deux lots de 5 souris avec ces cultures. Ainsi, chaque souris recevait 0 cmc. 6 de culture additionnée de sang de chenilles. Toutes les souris injectées avec le contenu du premier tube sont restées vivantes. Les souris injectées avec la culture du deuxième tube sont mortes au bout de quatre à sept jours.

Nous avons pu observer également dans le sang de chenilles immunisées de *Pyrausta nubilalis* des bactériolysines analogues *in vitro* envers le bacille de Danysz et le vibrion du choléra.

Nous avons recherché les bactériolysines *in vitro* chez les *Carausius morosus*. Voici une de nos expériences faites selon la technique habituelle.

EXPÉRIENCE n° 34

Trois *Carausius* ont été injectés avec une culture chauffée de bac. de Danysz.

Trois jours après, l'injection a été répétée. Le lendemain de la dernière vaccination, leur sang a été prélevé dans un tube stérile. Comme contrôle, dans un autre tube a été prélevé le sang d'insectes non vaccinés.

Puis le sang a été additionné de quelques gouttes d'émulsion du même microbe et a été porté à l'étuve. Les examens microscopiques successifs ne montraient pas de bactériolyse.

La même expérience avec les résultats analogues a été faite avec le vibrion du choléra.

En résumé, le sang des *Carausius*, normales aussi bien que vaccinées, ne montre aucun pouvoir bactériolytique envers ces microbes.

Nous avons entrepris l'étude de la spécificité des bactériolysines. Ici, nous citons quelques expériences entreprises dans ce but.

EXPÉRIENCE n° 35

Le sang des chenilles préalablement vaccinées avec culture chauffée de bac. Danysz a été prélevé à proportion de 0 cmc. 5 dans trois petits tubes stériles.

Le premier tube a été additionné d'une goutte d'émulsion épaisse de bac. *Galleriae*.

Le deuxième tube a été additionné d'une goutte d'émulsion épaisse de Vibrion de choléra.

Le troisième tube a été additionné d'une goutte d'émulsion épaisse de bac. Danysz.

Tous ces tubes ont été portés à l'étuve et on a examiné ce sang à plusieurs reprises.

Dans le premier tube, nous n'avons pas pu constater le phénomène de bactériolyse.

Dans le deuxième tube, absence de microbes ; granules nombreux.

Dans le troisième tube, la bactériolyse était complète après trente minutes.

Les résultats de cette expérience montrent que les bactériolysines ne sont pas spécifiques. Ainsi, le sang des chenilles immunisées contre le bac. de Danysz provoque la bactériolyse des vibrions cholériques.

Il faut noter que nous n'avons pas pu obtenir la bactériolyse de B. de *Galleria*. L'expérience suivante montre que même l'injection de corps non microbiens peut provoquer l'apparition de bactériolysines dans le sang des chenilles. Mais leur intensité et le temps nécessaire pour leur action varie selon la substance injectée.

EXPÉRIENCE n° 36

Un lot de chenilles de *Galleria mellonella* a été injecté avec une culture chauffée du Vibrion de Metchnikoff. Le lendemain, on a prélevé 0 cmc. 5 de sang de ces chenilles, que l'on a mis dans un petit tube stérile.

Dans un deuxième tube, a été mise la même quantité de sang de chenilles injectées préalablement avec une culture chauffée de bac. de Danysz.

Dans un troisième tube, a été mis le sang de chenilles préalablement injectées avec le sérum du cheval.

Dans le quatrième tube, on a placé le sang des chenilles préalablement injectées avec le bouillon.

Enfin, dans le cinquième tube a été mis le sang de chenilles normales.

Chacun de ces tubes a été additionné d'une goutte d'émulsion épaisse de Vibrion de Metchnikoff. Tous ont été portés à l'étuve. En examinant le sang de ces 5 tubes, nous avons observé la bactériolyse complète dans les deux premiers tubes après quarante minutes. Dans les troisième et quatrième tubes, la bactériolyse était peu marquée après le même temps, mais presque complète après une heure. Tandis que dans le dernier tube avec du sang normal, les vibrions n'étaient pas modifiés même après plusieurs heures.

Nous avons essayé de déterminer si les bactériolysines sont contenues dans le plasma ou si leur action est liée aux leucocytes seulement. Dans ce but, nous avons entrepris l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE n° 37

Le sang des chenilles, préalablement vaccinées avec culture chauffée de bac. de Danysz, a été prélevé dans un petit tube stérile.

Après l'avoir centrifugé, nous avons séparé dans 2 tubes les leucocytes et le plasma. Les leucocytes ont été émulsionnés. Les 2 tubes ont été additionnés d'une goutte de culture du bac. de Danysz, et ils ont été mis à l'étuve.

Trente minutes après, nous avons pu observer l'absence de microbes et plusieurs granules dans les deux tubes.

La concentration du vaccin injecté ne joue qu'un rôle très secondaire dans l'apparition des bactériolysines. Ainsi, en injectant aux chenilles le vaccin 100 fois moins concentré que d'habitude, nous avons pu constater dans leur sang les bactériolysines, mais leur action est un peu plus lente et moins intense.

Nous avons déjà mentionné que l'immunité acquise chez les chenilles se produit extrêmement vite : déjà 3-6 heures après la vaccination, ces insectes sont complètement immunisés. Nous avons établi que le temps nécessaire pour la formation des bactériolysines est très court. En examinant le sang des chenilles 4 heures et demie après la vaccination, on peut déjà constater leur apparition.

EXPÉRIENCE n° 38

Le 2 avril, à 10 heures du matin, 10 chenilles ont été injectées avec une culture chauffée de bac. de Danysz.

Quatre heures trente minutes après, le sang de ces chenilles a été prélevé dans un petit tube ; puis, on y a additionné une goutte d'émulsion épaisse de la même culture du même microbe. Le tube a été porté à l'étuve.

L'examen des frottis préparés avec ce sang montre :

Une heure après, absence de microbes, beaucoup de granules.

Deux heures après, le nombre de granules est fortement réduit ; bactériolyse complète.

Nous avons démontré que l'immunité active et passive chez les chenilles se maintient plusieurs jours. Mais les bactériolysines, qui apparaissent si vite après la vaccination, disparaissent complètement après 72 heures.

Les résultats de nos nombreuses expériences montrent que depuis ce temps le sang de chenilles vaccinées ne produit plus de bactériolysines et devient à ce point de vue aussi inactif que le sang de chenilles normales. Mais depuis l'immunisation jusqu'au troisième jour, son pouvoir bactériolytique est toujours extrêmement fort. Ce sang peut être additionné de très grandes quantités de microbes ; ceux-ci sont toujours complètement lysés. Il n'est pas même nécessaire d'employer du sang homogène. En le diluant avec de l'eau physiologique 2, 4 et 6 fois, on ne change presque pas l'effet de la bactériolyse. Mais déjà, quand on dilue le sang 10 fois, la bactériolyse se manifeste plus lentement ; néanmoins, elle est encore assez intense et il suffit de X gouttes de sang ainsi dilué pour transformer en granules, au bout de deux heures, 11 gouttes d'une émulsion préparée avec une culture de gélose sur bac. de Danysz dans 1 cmc. d'eau physiologique. On peut encore constater l'action bactériolytique en ajoutant 11 gouttes de sang de chenilles immunisées à une émulsion préparée avec une culture entière du même microbe dans 1 cmc. d'eau physiologique.

Nous avons déjà mentionné, en étudiant l'immunité passive, que le chauffage à 60° du sang de chenilles vaccinés ne diminue pas son action immunisante. Paillot a trouvé, dans ses recherches sur les bactériolysines chez les chenilles, que si l'on

chauffe une demi-heure à 70-72 l'immunsang d'Agrotis, la partie claire recueillie après centrifugation est encore capable de bactériolysier les bacilles du Hanneton, mais à partir de cette température le sang perd rapidement ses propriétés bactériolytiques et vers 75° celles-ci disparaissent complètement.

Nous avons pu démontrer que les bactériolysines de chenilles sont thermostables ; en diluant le sang préalablement avec de l'eau physiologique, on peut le chauffer à de très hautes températures sans qu'il perde son pouvoir bactériolytique.

EXPÉRIENCE n° 39

Nous avons prélevé le sang de chenilles vaccinées ; après l'avoir dilué quatre fois avec de l'eau physiologique, nous l'avons réparti dans 4 petits tubes. Le premier était mis vingt minutes au bain-marie à 80°, le deuxième à 90°, le troisième à 100° et le quatrième a été porté pendant vingt minutes à l'autoclave à 115°. Après avoir refroidi tous ces tubes, nous avons mélangé et broyé aseptiquement les caillots de sang coagulé ; ensuite nous avons ajouté dans chaque tube une goutte d'émulsion de bac. de Danysz. Puis tous les tubes ont été portés à l'étuve à 30°. Dans les 3 premiers tubes, le phénomène de bactériolyse commence à se manifester après une heure trente minutes ; deux heures après, on trouve beaucoup de granules et, trois heures après, la bactériolyse est complète. Cependant, dans le quatrième tube, pendant ce temps-là, les bac. de Danysz sont intacts et, le lendemain, c'est-à-dire dix-huit heures après, une certaine partie est transformée en granules.

En aigissant de même avec le sang de chenilles normales, nous n'avons pu remarquer aucun phénomène de bactériolyse.

Cette expérience montre qu'il est difficile de déterminer la température exacte au-dessus de laquelle les bactériolysines sont détruites. Cependant, en comparant ces résultats avec ceux de nos expériences précédentes, on voit qu'après avoir chauffé le sang au-dessus de 60° ses propriétés sont essentiellement modifiées ; le temps nécessaire pour la bactériolyse est plus long ; ce qui montre que les bactériolysines deviennent moins actives.

Certaines substances chimiques, comme le chloroforme, ont sur les bactériolysines des chenilles une action analogue à celle des hautes températures.

En émulsionnant le sang prélevé sur des chenilles immunisées avec quelques gouttes de chloroforme et en additionnant des

microbes de Danysz, nous avons pu remarquer que la bactériolysine se développait plus lentement et exigeait à peu près trois heures.

La thermostabilité et aussi l'absence de spécificité sont les caractères les plus typiques des bactériolysines de chenilles, ce qui les différencie des bactériolysines de mammifères. N'y a-t-il pas quelque analogie entre nos bactériolysines et certaines souches de bactériophage ? Sur le conseil de notre regretté maître le Dr Roux, nous avons recherché si le principe bactériolytique du sang de chenilles immunisées est transmissible *in vitro*. Dans ce but, nous avons entrepris différentes expériences.

En voici une à titre d'exemple :

EXPÉRIENCE n° 40

On a placé dans un petit tube 0,25 cmc. de sang de chenilles préalablement immunisées avec la culture chauffée de bac. de Danysz. Puis ce sang était additionné de la même quantité du bouillon et d'une goutte d'émulsion épaisse du même microbe. Le mélange a été mis à l'étuve à 30° et la bactériolyse se développait comme d'habitude.

Le même procédé a été fait avec le sang de chenilles normales, mais le contrôle ne montrait pas la bactériolyse. On a conservé les deux liquides jusqu'au lendemain. On a préparé alors deux tubes avec des émulsions de bac. de Danysz dans 0 cmc. 5 de bouillon. Dans un tube, on a mis 6 gouttes du mélange lysé ; dans l'autre, 6 gouttes de celui du contrôle.

Cette fois, la bactériolyse, dans le premier tube, se développait très lentement et seulement après dix-huit heures il y avait beaucoup de granules, mais la lyse n'était pas complète. Les microbes du tube de contrôle n'étaient pas modifiés. En faisant encore un passage, on pouvait à peine remarquer la différence entre le mélange qui provenait du sang de chenilles immunisées et celui du contrôle.

Mais si ces bactériolysines ne sont pas transmissibles comme le bactériophage, elles conservent leurs propriétés *in vitro* pendant un temps assez long.

EXPÉRIENCE n° 41

On a mis dans 2 petits tubes du sang de chenilles immunisées avec une culture chauffée de bac. de Danysz dans la proportion de

deux parties de sang et trois parties d'eau physiologique. Puis, on a porté ces tubes au bain-marie à 100° pendant trente minutes. Les tubes ont été scellés et conservés au laboratoire.

Cinq jours après, un tube a été ouvert et on y a ajouté 2 gouttes d'émulsion épaisse préparée avec une culture de bac. de Danysz. Le mélange a été porté à l'étuve à 30° et, trois heures après, la bactériolyse fut complète.

Le deuxième tube a été conservé pendant quatre mois, puis il a été ouvert et on y a ajouté une goutte d'émulsion épaisse de bac. de Danysz. Mais, cette fois, la bactériolyse ne s'est pas manifestée.

Rôle du système nerveux dans l'immunité.

Dans une série de travaux, Métalnikov a pu mettre en évidence le rôle du système nerveux dans l'immunité chez les insectes. Nous avons vu que les centres nerveux de la chenille de *Galleria* sont logés au-dessous du tégument de la partie ventrale de son corps. Cette structure anatomique permet très facilement de détruire les ganglions nerveux de cet insecte. Métalnikov a pu les brûler au moyen d'un fil de platine chauffé au rouge. Suivant cet auteur, la destruction des ganglions cérébraux abdominaux et de 1 et 2 ganglions thoraciques n'a pas d'influence sur l'immunité de la chenille. Mais après la destruction du III^e ganglion thoracique, l'immunité diminue rapidement. L'examen du sang de ces chenilles montre l'index phagocytaire très inférieur à celui des chenilles au III^e ganglion intact.

Métalnikov et Ermolaëff ont pu immuniser les fragments du corps d'une chenille séparés par une ligature. (Les chenilles ligaturées peuvent vivre plusieurs semaines.) Il suffit de vacciner la partie antérieure du corps pour transmettre l'immunité au fragment postérieur. L'immunisation de ce fragment se produit par l'intermédiaire du système nerveux.

Si, avant de ligaturer les chenilles, on rompt par une brûlure la chaîne nerveuse ventrale, l'immunité ne se transmet plus à la partie postérieure du corps.

Des résultats analogues ont été obtenus avec l'immunisation passive des fragments séparés par une ligature.

Hérédité de l'immunité.

Nous avons vu que la mite d'abeille donne pendant une année jusqu'à 6 et 8 générations. La rapidité du développement de cet insecte a permis à Métalnikov d'étudier la transmission héréditaire de l'immunité sur 14 générations successives de ces chenilles. Une partie des chenilles de chaque génération est immunisée 2 ou 3 fois avec de petites doses de vaccin. On inoculait d'autres avec des doses minima mortelles du vibron cholérique, peu virulent.

Les résultats obtenus par Métalnikov ont montré que les deux premières générations n'ont pas donné de chenilles immunisées. Mais déjà la troisième génération a donné 30 % ; la septième a donné 45 % et la dixième jusqu'à 77 % de chenilles immunisées.

VI

CONCLUSIONS

1° L'étude de l'immunité chez les insectes montre qu'ils présentent une résistance naturelle très prononcée envers l'infection microbienne ;

2° Cette immunité naturelle est variable suivant l'espèce d'insectes ;

3° Elle varie dans des limites très larges suivant le microbe en cause ;

4° Les insectes possèdent une immunité très développée envers plusieurs microbes très pathogènes pour les Vertébrés, mais ils sont beaucoup plus sensibles vis-à-vis d'une quantité de microbes peu virulents pour les animaux à sang chaud ;

5° L'étude de l'immunité antituberculeuse présente un intérêt particulier :

- a) Les chenilles de la mite des abeilles possèdent une immunité absolue envers différentes souches de bacilles tuberculeux ; on a démontré la destruction des bacilles dans les cellules de ces chenilles.
- b) On a pu constater l'immunité antituberculeuse chez d'autres insectes, mais elle n'est pas encore suffisamment bien étudiée ;
- c) Nos études personnelles montrent que chez les Phasmides, cette immunité prend une forme de symbiose. Les bacilles injectés conservent leur vitalité dans le sang de ces insectes pendant plusieurs mois, ne provoquant pas de maladie de l'hôte ;

6° Les insectes possèdent une immunité très prononcée vis-à-vis des toxines.

Cette immunité est variable suivant les toxines et suivant l'espèce ;

7° La résistance de l'insecte dépend du mode d'infection. Les microbes très pathogènes pour les insectes peuvent devenir complètement inoffensifs par voie buccale ;

8° La température à laquelle sont exposés les insectes après l'infection joue un rôle essentiel dans la marche de l'infection. La sensibilité augmente avec la température ;

9° Le stade du développement a une influence sur la résistance de l'insecte ; ainsi les chenilles sont plus résistantes que les chrysalides et que les papillons. L'immunité dépend aussi des caractères individuels ;

10° Les conditions extérieures ont une influence considérable sur l'immunité des insectes. Nous avons démontré que les chenilles exposées antérieurement à l'infection à température élevée (39°) ou bien à température basse (+ 2°) deviennent moins résistantes ;

11° L'immunité varie avec différentes souches d'un même microbe et avec l'acidité du milieu ;

12° L'existence d'une immunité acquise est établie chez les insectes. On peut, au moyen de la vaccination préventive, les protéger contre les doses sûrement mortelles de microbes. Ce fait est démontré chez plusieurs espèces ;

13° Nous avons pu établir l'immunisation active chez les Phas-mides ;

14° Il existe plusieurs moyens d'immunisation :

- a) Injection d'une culture chauffée.
- b) Injection d'une culture atténuée par vieillissement.
- c) Injection d'une culture virulente, mais en quantités très inférieures à la dose mortelle ;

15° L'immunité acquise chez les insectes s'établit avec une rapidité beaucoup plus grande que chez les Vertébrés. Le temps

nécessaire pour l'immunisation varie suivant l'espèce. Les chenilles de *Galleria mellonella* sont immunisées après 3-6 heures. Nous avons démontré que le temps nécessaire pour l'immunisation des Phasmides est 48 heures ;

16° La durée d'immunité est variable. Elle est très prononcée les premiers jours après la vaccination. Mais elle peut persister pendant un temps assez long. Nous avons pu démontrer sa persistance chez les *Carausius* 4 mois après la vaccination.

17° L'intensité et la durée de l'immunité dépendent de la quantité du vaccin injecté. Nous avons établi chez les Phasmides que la vaccination répétée plusieurs fois donne des résultats nettement supérieurs à ceux obtenus après la vaccination unique.

18° L'immunité chez les insectes a des caractères spécifiques. Mais les premiers jours après la vaccination ils sont masqués par une immunité non spécifique. Elle peut être provoquée non seulement par l'injection des vaccins non spécifiques, mais aussi par l'injection des substances albuminoïdes et même de l'eau physiologique ;

19° Nous avons établi que l'injection de sang de chenilles immunisées provoque l'immunité passive chez les chenilles neuves. Ce fait a été confirmé par plusieurs auteurs ;

20° De nos études sur l'immunité passive chez les chenilles, il résulte que :

- a) elle n'est pas strictement spécifique.
- b) pour produire l'immunité passive, on peut injecter le sang de chenilles plusieurs jours après la vaccination.
- c) l'immunité passive se maintient plusieurs jours.
- d) les leucocytes et le plasma de chenilles vaccinées, employés séparément, confèrent l'immunité passive aussi bien que le sang lui-même.
- e) la haute température (80°) ne détruit pas complètement la propriété immunisante de ce sang ;

21° Nous avons démontré que l'injection de sang de chenilles vaccinées produit un effet curatif. Cette propriété curative du sang peut se conserver pendant plusieurs jours *in vitro* ;

22° Les réactions cellulaires jouent un rôle important dans la défense de l'organisme chez les insectes. Ces réactions peuvent être réduites à quatre types :

- a) phagocytose ;
- b) formation des cellules géantes ;
- c) formation des capsules ;
- d) formation des abcès ;

23° L'injection d'une substance étrangère provoque chez les insectes une modification caractéristique de la formule leucocytaire. Nous avons observé cette modification après l'immunisation active et passive ;

24° Les insectes sont capables de former les anticorps ;

25° Les bactériolysines sont des anticorps le plus souvent observés chez les insectes. Nous avons pu les étudier chez les chenilles de *Galleria mellonella* et *Pyrausta nubilalis*. Nous avons pu prouver leur action *in vitro* :

- 1° par l'examen microscopique ;
- 2° par l'ensemencement sur gélose de cultures lysées ;
- 3° par l'injection de ces cultures aux souris ;

26° De nos études personnelles sur les bactériolysines, il résulte que :

- a) elles ne sont pas spécifiques.
- b) leur action peut être constatée quatre heures et demi après l'immunisation, mais elles disparaissent après trois jours.
- c) elles sont thermostabiles, leur action est ralentie dans le sang chauffé au-dessus de 60°, mais ne disparaît pas complètement, même après le chauffage à 115°.
- d) le chloroforme ralentit la bactériolyse.
- e) ces bactériolysines ne sont pas transmissibles *in vitro*.
- f) le sang conservé plusieurs jours *in vitro* ne perd pas son action bactériolytique ;

27° D'après nos recherches sur l'immunité passive et sur les bactériolysines chez les insectes, le sang des chenilles immunisées ne renferme pas d'alexine ni de sensibilisatrice analogue à celle du sang des Vertébrés ;

28° Le système nerveux joue un rôle dans l'immunisation des insectes.

- a) la destruction de la troisième paire des ganglions thoraciques rend l'immunisation des chenilles impossible.
- b) l'immunité peut être transmise par la chaîne nerveuse au fragment du corps d'une chenille séparé par une ligature ;

29° L'immunité acquise chez les chenilles peut se transmettre héréditairement.

Vu : le Président de la thèse,

FIESSINGER.

Vu : le Doyen,

ROUSSY.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

1. AGHAR (M.). — Contribution à l'étude de l'immunité chez les insectes. *Thèse Fac. Pharmacie Montpellier*, 1928.
2. BALBIANI. — Etude bactériologique sur les Arthropodes. *C. R. Ac. Sc.*, 1886, t. 103, p. 952.
3. BIRON (M.). — Etude de l'immunité des chenilles de *Galleria mellonella* envers les différents types de Bacilles tuberculeux. *Ann. Inst. Pasteur*, 1934, t. 53, p. 404.
4. CAMERON (G. R.). — Inflammation in the caterpillars of Lepidoptera. *Journ. of. Path. and Bact.*, 1934, t. 38, p. 441.
5. CANTACUSÈNE (J.). — Le problème de l'immunité chez les invertébrés. 75^e anniv. de la Soc. de Biol., 1923, p. 48.
6. CHIGASAKI (I.). — Sur l'immunisation de *Galleria* aux différents stades de sa vie. *C. R. S. Biol.*, 1925, t. 93, p. 573.
7. CHORINE (V.). — Contribution à l'étude de l'immunité chez les insectes. *Bull. Biol. Fr. et de la Belg.*, 1931, t. 65, p. 292.
8. FIESSINGER (N.). — Rôle de la lipase dans la défense antibacillaire. *Rev. de la Tuberc.*, 1910, t. 7, p. 177.
9. — L'immunisation antibacillaire de la mite d'abeille. *C. R. S. Biol.*, 1920, t. 83, p. 147.
10. — Les ferments des leucocytes. Masson, éd., 1923.
11. ERMOLAEFF (J.) et MÉTALNIKOV (S.). — Sur l'immunisation passive des fragments du corps des chenilles séparés par une ligature. *C. R. S. Biol.*, 1934, t. 116, p. 860.
12. HÉRELLE (F.). — Les coccobacilles des sauterelles. *Ann. Inst. Past.*, 1914, t. 28, p. 280.
13. HOLLANDE (A. Ch.). — Absence d'alexine dans le sang des insectes. *C. R. S. Biol.*, 1919, t. 82, p. 218.
14. — La digestion des Bacilles tuberculeux par les leucocytes du sang des chenilles. *Arch. Zool. exp.*, 1930, t. 70, p. 231.
15. ISHIMORI (N.) et MÉTALNIKOV (S.). — Immunisation de *Galleria mellonella* par des substances non spécifiques. *C. R. Ac. Sc.*, 1924, t. 178, p. 2136.
16. IVANOW (E.). — Les *trypanosoma equiperdum* dans les corps des chenilles de *Galleria mellonella*. *C. R. S. Biol.*, 1925, t. 92, p. 1286.
17. LE BOURDÈLLES (B.) et SÉDALLIAN (P.). — *Précis d'Immunologie*, 1930. Doin, édit.
18. MARCHOUX (E.). — Transmission de la lèpre par les mouches. *Ann. Inst. Pasteur*, 1916, t. 30, p. 61.

19. MÉTALNIKOV (S.). — Ein Beitrag zu der Frage über die Immunität gegen die Infection mit Tuberculose. *Zentralblatt f. Bakt.*, 1906, Orig. Bd. 41, p. 391.
20. — Recherches expérimentales sur les chenilles de *Galleria mellonella*. *Arch. Zool. exp.*, 1908, t. 8, p. 489.
21. — De la tuberculose chez les insectes. *C. R. S. Biol.*, 1914, t. 76, p. 95.
22. — Immunité naturelle et acquise chez les chenilles de *Galleria mellonella*. *Ann. Inst. Past.*, 1920, t. 34, p. 888.
23. — Rôle des anticorps dans l'immunité des chenilles. *Ann. Inst. Past.*, 1924, t. 37, p. 528.
24. — L'infection microbienne et l'immunité chez la mite des abeilles *Galleria mellonella*. *Monogr. de l'Inst. Past.*, 1927. Masson, édit.
25. —* Rôle du système nerveux et des facteurs biologiques et psychiques dans l'immunité. *Monogr. de l'Inst. Past.*, 1934. Masson, édit.
26. MÉTALNIKOV (S.) et CHORINE (V.). — Etude sur l'immunité naturelle et acquise des *Pyrausta nubilalis*. *Ann. Inst. Past.*, 1930, t. 44, p. 273.
27. MÉTALNIKOV (S.) et GASCHEN. — Sur la rapidité d'immunisation chez les chenilles de *Galleria mellonella*. *C. R. S. Biol.*, 1921, t. 85, p. 224.
28. MÉTALNIKOV (S.) et TOUMANOFF (K.). — Les cellules sanguines et la phagocytose chez les larves d'abeilles. *C. R. S. Biol.*, 1930, t. 103, p. 965.
29. METCHNIKOFF (E.). — L'immunité dans les maladies infectieuses, 1901. Masson, édit.
30. NICOLLE (Ch.), GUENOD (A.) et BLANC (G.). — Démonstration expérimentale du rôle des mouches dans la propagation du trachome. *C. R. S. Biol.*, 1919, t. 169, p. 1124.
31. NICOLLE (M.) et BOQUET (A.). — Eléments de microbiologie générale et d'immunologie, 1926. Doin, édit.
32. PAILLOT (A.). — L'infection chez les insectes, 1933.
33. PASTEUR (L.). — Etude sur la maladie des vers à soie, 1870, Paris.
34. PERTZEFF (V.). — Sur la lipase des chenilles de *Galleria mellonella*. *C. R. Ac. Sc.*, 1928, t. 187, p. 253.
35. TATEIWA (I.). — La formule leucocytaire du sang des chenilles normales et immunisées de *Galleria mellonella*. *Ann. Inst. Past.*, 1928, t. 42, p. 791.
36. TEJERA (E.). — Les blattes envisagées comme agents de dissémination des germes pathogènes. *C. R. S. Biol.*, 1926, t. 95, p. 1382.
37. TOUMANOFF (K.). — La tuberculose expérimentale chez le *Phasmode Dixippus morosus*. *C. R. S. Biol.*, 1925, t. 92, p. 14.
38. — Essais sur l'immunisation des abeilles. *C. R. Ac. Sc.*, 1927, t. 185, p. 1078.

39. TOUMANOFF (K.) et ZERNOFF (V.). — Expériences et observations sur l'éclosion des œufs de *Carausius (dixippus) morosus*. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1930, t. 55, p. 510.
 40. — Action de l'humidité sur la ponte de *Carausius morosus*. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 1930, t. 55, p. 506.
 41. VICHER (M.). — Contribution à l'étude de l'immunité chez les insectes. *Thèse Pharmacie Montpellier*, 1928.
 42. WENDELSTADT U. FELLMER. — Ein Wirkung von Kaltblüterpassagen auf Nagana und Lewisi-Trypanosomen. *Zeitschr. f. Immunit.*, 1910, Orig. t. 5, p. 337.
 43. WOLLMANN (E.). — Le rôle des mouches dans le transport des germes pathogènes étudié par la méthode des élevages aseptiques. *Ann. Inst. Past.*, 1924, t. 17, p. 229.
 44. ZERNOFF (V.). — L'immunité passive chez *Galleria mellonella*. *C. R. S. Biol.*, 1927, t. 97, p. 1697.
 45. — Sur la spécificité de l'immunité passive chez les chenilles de *Galleria mellonella*. *C. R. S. Biol.*, 1928, t. 98, p. 1500.
 46. — Sur la nature de l'immunité passive chez les chenilles de *Galleria mellonella*. *C. R. S. Biol.*, 1928, t. 99, p. 315.
 47. — Essai de sérothérapie chez *Galleria mellonella*. *C. R. Ac. Sc.*, 1929, t. 188, p. 1321.
 48. — Immunité passive chez les insectes. *Ann. Inst. Past.*, 1930, t. 44, p. 604.
 49. — L'immunité et les anticorps non spécifiques chez les insectes. *C. R. S. Biol.*, 1931, t. 106, p. 151.
 50. — Microbes virulents pour les chenilles (*Galleria mellonella* et *Pyrausta nubilalis*). *C. R. S. Biol.*, 1931, t. 106, p. 547.
 51. — Les bactériolysines chez les insectes. *Ann. Inst. Past.*, 1931, t. 46, p. 565.
 52. — Sur l'infection et l'immunité chez *Carausius morosus*. *C. R. S. Biol.*, 1932, t. 111, p. 385.
 53. — Sur l'immunité chez *Carausius morosus*. *C. R. S. Biol.*, 1934, t. 116, p. 148.
 54. — Influence des différentes concentrations des vaccins dans l'immunisation de *Galleria mellonella*. *C. R. S. Biol.*, 1934, t. 116, p. 304.
 55. ZOTTA (G.) et TEODORESCO (A. M.). — Formule leucocytaire de la chenille de *Galleria mellonella* infectée par le *Leptomonas pyrrhocris*. *C. R. S. Biol.*, 1933, t. 114, p. 314.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
I. — Introduction	9
II. — Matériel et méthodes	17
III. — Immunité naturelle	26
IV. — Immunité acquise	44
1 ^o Immunité active	44
2 ^o Immunité passive	55
V. — Mécanisme et facteurs de l'immunité	62
VI. — Conclusions	76
Bibliographie	81
